


**PCT**  
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
 Internationales Büro  
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <p style="text-align: center; margin-top: 10px;"><b>A61K 31/71</b></p>	<b>A2</b>	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 96/00576</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Januar 1996 (11.01.96)								
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/02518  (22) Internationales Anmeldedatum: 28. Juni 1995 (28.06.95)  (30) Prioritätsdaten: <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">9413010.1</td> <td style="width: 40%;">28. Juni 1994 (28.06.94)</td> <td style="width: 30%;">GB</td> </tr> <tr> <td>9412983.0</td> <td>28. Juni 1994 (28.06.94)</td> <td>GB</td> </tr> <tr> <td>9412987.1</td> <td>28. Juni 1994 (28.06.94)</td> <td>GB</td> </tr> </table> (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EVOCON GMBH [DE/DE]; Zugspitzstrasse 51, D-85551 Kirchheim (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STANKOV, Georgi [DE/DE]; Rentamtstrasse 10, D-85551 Heimstetten (DE).  (74) Anwälte: KINZEBACH, Werner usw.; Reistötter, Kinzebach & Partner, Sternwartstrasse 4, D-81679 München (DE).	9413010.1	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB	9412983.0	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB	9412987.1	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB	(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
9413010.1	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB								
9412983.0	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB								
9412987.1	28. Juni 1994 (28.06.94)	GB								
(54) Title: NOVEL CLINICAL USES OF POLYENE MACROLIDES  (54) Bezeichnung: NEUE KLINISCHE ANWENDUNGEN VON POLYEN-MAKROLIDEN  (57) Abstract  <p>The present invention relates to the use of at least one polyene macrolide to produce a medicament for the treatment of diseases associated with faulty energy conversion. The present invention makes it possible in particular deliberately to stimulate the energy conversion in human cells, i.e. to stimulate the cell mechanism, and thus to treat or prevent a number of diseases.</p> (57) Zusammenfassung  <p>Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung wenigstens eines Polyen-Makrolids zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Störung des Energieumsatzes assoziiert sind. Insbesondere erlaubt die vorliegende Erfindung eine gezielte Stimulation der Energieumwandlung in menschlichen Zellen, d.h. eine Stimulation des Zellmetabolismus und damit die Behandlung von oder die Vorbeugung bei einer Reihe von Krankheiten.</p> <div style="text-align: center; margin-top: 50px; font-family: cursive; font-size: 1.2em;">       = US 5,880, 101     </div>										

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

## Neue klinische Anwendungen von Polyen-Makroliden

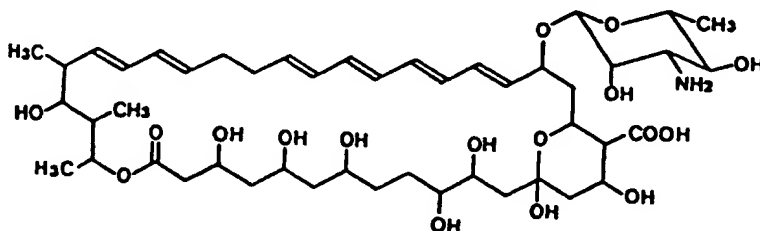
Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung wenigstens eines Polyen-Makrolids zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Störung des Energieumsatzes assoziiert sind. Insbesondere erlaubt die vorliegende Erfindung eine gezielte Stimulation der Energieumwandlung in menschlichen Zellen, d.h. eine Stimulation des Zellmetabolismus und damit die Behandlung von oder die Vorbeugung bei einer Reihe von Krankheiten.

## Hintergrund der Erfindung

Gegenwärtig sind mehr als 200 verschiedene Polyen-Makro-  
15 lid-Antibiotika bekannt, wobei die meisten dieser Verbindungen  
von Boden-Actinomyceten, überwiegend vom Genus Streptomyces,  
produziert werden.

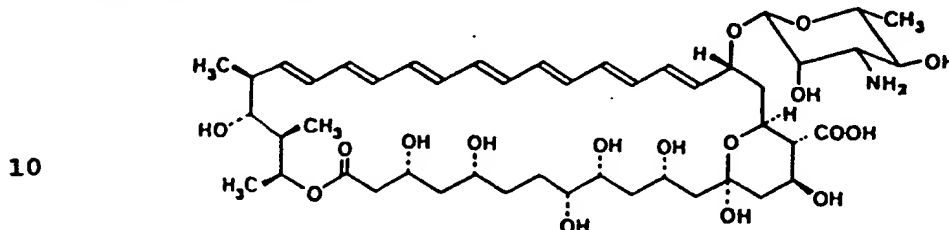
Polyen-Makrolide (im folgenden Text auch als Polyene oder Makrolide bezeichnet) sind gekennzeichnet durch einen 20 - 40-gliedrigen Lactonring, der drei bis acht konjugierte Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen aufweist. Häufig trägt der Lactonring einer Zuckerrest. Einige Makrolide enthalten eine aliphatische Seitenkette, welche gegebenenfalls einen aromatischen Substituenten trägt. Gewöhnlich trägt der Makrolid-Ring wenigstens eine Hydroxylgruppe.

Nystatin wurde als erste Substanz aus der Klasse der Poly-  
en-Makrolide beschrieben. Es wurde im Jahre 1951 als Metabolit  
der Pilzspezies Streptomyces noursei isoliert. Nystatin, im  
weiteren Text als Nys bezeichnet, hat folgende Strukturformel:



Aufgrund seiner  $\pi$ -Elektronenstruktur, die 4 konjugierte Doppelbindungen umfaßt, wird Nys als Tetraen-Makrolid bezeichnet.

Ein weiteres Beispiel für ein Polyen-Makrolid ist Amphoter-  
 ricin B (im weiteren Text als Amp bezeichnet). Im Unterschied  
 zu Nys weist diese Verbindung eine zusätzliche Doppelbindung  
 auf. Da Amp insgesamt sieben konjugierte Doppelbindungen be-  
 5 sitzt, wird es der Gruppe der Heptaen-Makrolide zugeordnet. Amp  
 besitzt folgende Strukturformel:



Obwohl insbesondere Nys und Amp seit mehreren Jahrzehnten  
 bekannt sind und an Millionen Patienten oral verabreicht wur-  
 15 den, blieb deren therapeutische Anwendung bisher ausschließlich  
 auf die Behandlung von Candidiosen (Mykosen) beschränkt. In  
vitro Untersuchungen zeigen, daß Nys und Amp in absteigender  
 Dosierung fungizid, fungistatisch oder pilzwachstumsfördernd  
 wirken können. Der letztgenannte Effekt wird in den meisten  
 20 wissenschaftlichen Publikationen weitgehend verschwiegen. Ande-  
 rerseits gibt es viele in vitro Untersuchungen, welche zellsti-  
 mulierende Effekte von Nys und Amp bei Eukaryonten-Zellen erga-  
 ben (J. Bolard, How do polyene macrolide antibiotics affect the  
 cellular membrane properties, Biochim. Biophys. Acta (1986),  
 25 864, 257-304).

Die antimykotische Wirkung von Nys und Amp wird im allge-  
 meinen auf eine spezifische Wechselwirkung mit dem membranstän-  
 digen Ergosterol der Pilze zurückgeführt. Diese soll zur Zer-  
 störung der Pilzmembranen, zum Eintritt von Ionen und anderen  
 30 löslichen Substanzen in die Pilze führen, wodurch der Pilzmeta-  
 bolismus gehemmt und eine Pilzzell-Lyse ausgelöst wird. Im Rah-  
 men dieser Erfindung wird gezeigt, daß diese gängige Modellvor-  
 stellung nicht in der Lage ist, die vielfältigen pharmakologi-  
 schen Effekte der Polyen-Makrolide zu erklären. Das falsche  
 35 pharmakodynamische Modell, das der bisherigen Anwendung dieser  
 Substanzklasse zugrundelag, liefert nur eine Erklärung dafür,  
 daß das universale therapeutische Potential von Polyen-Makroli-

den bisher nicht erkannt wurde.

Nys und Amp werden gemäß Stand der Technik lediglich für die Therapie von oberflächlichen und gastrointestinalen Mykosen verwendet. Zur Behandlung von intestinalen Candidosen und Soor-  
5 mykosen wird beispielsweise die Verabreichung von Nys in einer Dosis von  $3-4 \cdot 10^6$  I.E./Tag über einen Zeitraum von 8 Tagen, gefolgt von einer Dosis von 1,5 bis  $2 \cdot 10^6$  I.E./Tag in den darauffolgenden 8 Tagen empfohlen. Zur Behandlung von Hautinfektionen durch Pilze wird beispielsweise empfohlen, eine Nystatin-Creme ( $1 \cdot 10^5$  I.E./g Salbe) 2 bis 3-mal täglich bis zum  
10 Abklingen der Erkrankung (etwa 6 Tage) zu applizieren. 1 g Nys entspricht etwa  $5 \cdot 10^6$  I.E. Die gemäß Stand der Technik empfohlenen und üblicherweise verwendeten oralen und topischen Dosierungen sind jedoch niedriger und/oder die Dauer der Behandlung ist erheblich kürzer als die erfindungsgemäß empfohlene Dosierung bzw. Therapiedauer für die erfindungsgemäßen beschriebenen Indikationen. Dies erklärt zusätzlich, warum man die neuen therapeutischen Effekte der Polyen-Makrolide bisher nicht feststellen konnte.

Hinzu kommt die allgemein verbreitete, jedoch wissenschaftlich nicht belegte Annahme, daß Polyenmakrolide, wie Nys und Amp, nach oraler, topischer oder intranasaler Gabe vom Magen-Darm Trakt nicht oder nur sehr unzureichend resorbiert wird (z.B. Van den Boussche, H. et al. CRC Crit. Rev. Microbiol.  
20 (1987), Bd. 15, 57-72); Arzneimittel Fortschritte 1972-1985, Kleeman et al. Hrsg, Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1176-1184; Goodman & Gilman's, The pharmacological Basis of Therapeutics, (1992), 8. Auflage, Bd. 2, S. 1178). Dieser Vorurteil muß als der Hauptgrund angesehen werden, warum die praktische Anwendung von Nys bisher auf die lokale Behandlung von  
30 Candidosen beschränkt war, eine mögliche systemische Anwendbarkeit jedoch nicht erkannt worden war.

Ein weiterer Grund für die eingeschränkte Verwendung von Polyen-Makroliden gemäß Stand der Technik kommt hinzu. Es ist  
35 bekannt, daß Nys und alle anderen Polyene erhebliche Toxizität nach intravenöser oder intramuskulärer Gabe aufweisen. Nach i.m. Injektion werden schwere lokale Entzündungen beobachtet.

Nach i.v. Gabe kommt es vor allem zur Nierenschädigung aber auch zu anderen schweren Nebenwirkungen. Aus diesem Grund ist Nys für die i.v. Therapie nicht zugelassen. Amp, welches für die i.v. Therapie zugelassen ist, obwohl es in vitro und in vivo noch toxischer als Nys wirkt, darf nur in 20 bis 100-fach niedrigeren Dosierungen als nach oraler Gabe verabreicht werden.

Die weltweiten Erfahrungen, die man bei der oralen Therapie von Millionen Patienten mit Nys und Amp gewonnen hat, beleugen andererseits, daß diese Substanzen ausgesprochen gut verträglich sind. Bis auf eine leichte, vorübergehende Übelkeit bei Therapiebeginn, die bei weniger als 1% der Patienten auftritt und rasch abklingt, sind bisher keine schweren Nebenwirkungen bekannt. Dies ergibt sich aus einer Literaturrecherche, bei der ca. 2000 Publikationen zu diesem Thema ausgewertet wurden. Diese Diskrepanz - hohe Toxizität nach i.v. und i.m. Gabe auf der einen Seite und keine Toxizität nach oraler Gabe auf der anderen Seite - hat das weitverbreitete Vorurteil, daß Polyen-Makrolide nicht resorbiert werden, zusätzlich verstärkt.

#### Zusammenfassung der Erfindung

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist daher das therapeutische Spektrum für Polyen-Makrolide zu erweitern.

Diese Aufgabe wurde ausgehend von der überraschenden Beobachtung gelöst, daß Polyen-Makrolide, deren pharmazeutisch verträglichen Salze und funktionellen Derivate zur Behandlung solcher Erkrankungen verwendet werden können, deren Entstehung und/oder Verlauf assoziiert ist mit einer Störung der Energieumwandlung, d.h. des Energieumsatzes, von Körperzellen eines Säugetiers, wie insbesondere eines Menschen.

Im Gegensatz zu anderen Makrolid-Verbindungen verbessern die erfindungsgemäß verwendeten Polyen-Makrolide den zellulären Energieumsatz durch Modulation der Frequenz zellulärer Potentialschwankungen und bewirken dadurch eine Rückbildung der Krankheitssymptome.

Die erfindungsgemäß verwendeten Wirkstoffe besitzen eine gestreckte, zuweilen stäbchenförmige Struktur auf. Deren Länge kann beispielsweise in etwa im Bereich der Dicke der Lipiddop-

pelschicht biologischer Membranen (ca.  $20 \times 10^{-10} \text{m}$ ) liegen. Der stäbchenförmig gestreckte Makrolid-Ring weist vorzugsweise eine hydrophobere und eine hydrophilere Längsseite auf. Die hydrophobe Seite wird dabei von einer Polyenkette aus einer Vielzahl  
 5 vollständig oder teilweise konjugierter, vorzugsweise zueinander trans-ständiger, Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen gebildet. Die hydrophile Seite wird von einer gewöhnlich überwiegend  $\text{sp}^3$ -hybridisierten Kohlenstoffkette gebildet, die mindestens einen hydrophileren Substituenten, wie z.B. eine  
 10 Hydroxylgruppe trägt. Einzelne, d.h. ein oder zwei, Carbonyl-Gruppen und/oder  $\text{C}=\text{C}$  Bindungen können in der hydrophileren Seite ebenfalls enthalten sein. Als weiteres Strukturelement können die Verbindungen an einem Ende des stäbchenförmigen Grundgerüsts einen Aminozuckerrest, insbesondere einen Mycosamin-  
 15 oder einen Perosamin-Rest und gegebenenfalls eine Carboxylgruppe tragen. Am gegenüberliegenden Ende befindet sich häufig wenigstens eine polare Hydroxyl- oder Carbonylgruppe.

Die erfindungsgemäß bevorzugten Polyen-Makrolide sind durch eine Dipolstruktur charakterisiert welche in funktionaler  
 20 Hinsicht derjenigen von integralen Membranproteinen sehr ähnlich ist. Die bevorzugten Makrolide besitzen im elektrischen Feld des zellulären Plasmamembranpotentials eine Dipolenergie  $E_D$  von etwa  $10^{-19} \text{J}$ , wie z.B. etwa 1 bis  $2,5 \times 10^{-19} \text{J}$ , wenn man zur Berechnung von  $E_D$  folgende Näherungsformel anwendet:

$$25 \quad E_D = n \cdot e \cdot l \cdot F_p$$

worin  $n$  die Anzahl nicht-aromatischer  $\pi$ -Elektronen aus  $\text{C}=\text{C}$  Bindungen auf der hydrophoberen Seite im Makrolid-Ring bedeutet,  $e$  für die Ladung eines Elektrons ( $1,6 \times 10^{-19} \text{Coulomb}$ ) steht,  $l$  für die Länge der  $\pi$ -Elektronenkette steht und  $F_p$  die elektrische  
 30 Kraft des Plasmapotentials einer Körperzelle ( $4,5 \times 10^7 \text{Vm}^{-1}$ ) bezeichnet. Beispielsweise ist für Nys  $n=12$  und  $l=22 \times 10^{-10} \text{m}$ . Daraus errechnet sich ein  $E_D$ -Wert von etwa  $1,9 \times 10^{-19} \text{J}$ . Für Amp ergibt sich entsprechend ein  $E_D$ -Wert von etwa  $2,2 \times 10^{-19} \text{J}$ .

Alle erfindungsgemäß verwendeten Makrolide fördern den  
 35 Energieumsatz  $E$  der Zellen, indem sie die Frequenz  $f$  des zellulären Aktionspotentials nach der Formel  $E = E_A \cdot f$  erhöhen, wo-

bei  $E_A$  die konstante Energie eines Aktionspotentials darstellt.

Insbesondere wird die Aufgabe gelöst durch Polyen-Makrolide, welche 4 bis 7 konjugierte, vorzugsweise trans-ständige, Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen aufweisen sowie deren funktionellen Derivate.

Im Rahmen der erfindungsgemäßen Indikationen werden die Makrolid-Verbindungen oral, topisch oder intranasal verabreicht.

Geeignete funktionelle Derivate von Polyen-Makroliden sind solche Verbindungen, in denen wenigstens eine Hydroxyl- und / oder Carboxylgruppe des Makrolids zu einer Esterfunktion derivatisiert ist, ohne die zellstimulierende Wirkung des Polyens wesentlich zu verringern. Beispiele für geeignete Ester umfassen  $C_1$ - $C_5$ -Alkylester. Weitere geeignete funktionelle Derivate umfassen  $N$ - $C_1$ - $C_5$ -Alkyllderivate von Aminogruppen-enthaltenden Makroliden mit zellstimulierender Aktivität.  $C_1$ - $C_5$ -Alkyl umfaßt erfindungsgemäß die Bedeutungen Methyl, Ethyl,  $n$ - und  $i$ -Propyl,  $n$ -,  $i$ - und  $t$ -Butyl oder  $n$ -,  $i$ - oder Neopenthyl, wobei Methyl und Ethyl besonders bevorzugt sind. Pharmazeutisch verträgliche Salze umfassen übliche Säureadditionssalze sowie Alkali- und Erdalkalimetallsalze, falls in den Polyen-Makroliden Amino- bzw. Carboxylgruppen vorliegen.

Beispiele für erfindungsgemäß verwendbare Polyen-Makrolide mit 4 bis 7 konjugierten Doppelbindungen sind den beiliegenden Tabellen 1 bis 4 zu entnehmen. Eine besonders bevorzugte Gruppe erfindungsgemäß verwendbarer Polyen-Makrolide umfaßt Verbindungen mit amphoterem Charakter, insbesondere solche Verbindungen mit einem Aminozuckerrest gemäß obiger Definition und einer Carboxylgruppe am gleichen Ende der gestreckten Makrolid-Struktur.

Am meisten bevorzugt verwendet man erfindungsgemäß Nys oder Amp und deren funktionalen Derivate, sowie solche Polyen-Makrolide obiger allgemeiner Definition, welche eine mit Nys und/oder Amp im wesentlichen vergleichbares Wirkungsspektrum besitzen. Zur Erzielung des erfindungsgemäßen Zwecks ist es jedoch keinesfalls erforderlich, daß das verwendete Polyen-Makrolid in bezug auf Nys und Amp funktional absolut identisch

ist. Die erfindungsgemäß gestellte Aufgabe wird auch dadurch gelöst, daß das ausgewählte Polyen-Makrolid nur einen Teil der im experimentellen Teil für Nys und Amp beschriebenen neuartigen therapeutischen Effekte besitzt.

5 Weitere Vertreter der erfindungsgemäß anwendbaren Tetraen-, Pentaen-, Hexaen- und Heptaen-Macrolide und die diese Verbindungen produzierenden Mikroorganismen sind in Macrolid-Antibiotics, Satoschi Omura, Herausgeber, Academic Press (1984), Teil II, Kapitel 9 beschrieben, auf welches Dokument  
10 hiermit vollinhaltlich Bezug genommen wird.

Die vorliegende Erfindung beruht auf der Feststellung, daß Nys und Amp als typische Repräsentanten der erfindungsgemäß verwendbaren Polyen-Makrolide bei einer Reihe von Krankheiten ungewöhnliche therapeutische in vivo Effekte nach oraler, in-  
15 tranasaler oder topischer Applikation aufweisen, die in der Literatur bisher nicht beschrieben wurden und auch nicht durch die oben erwähnte konventionelle Modellvorstellung zur antimykotischen Wirkungsweise theoretisch erklärt werden können.

Die erfindungsgemäß überraschenderweise festgestellten in-  
20 vivo Indikationen umfassen folgende Krankheitsgruppen:

- a) Wundleiden und Krankheiten mit gestörter Wundheilung,
- b) Krankheiten, die durch eine unzureichende Immunfunktion, bedingt sind oder mit einer vorübergehenden oder chroni-  
25 schen Immuninsuffizienz einhergehen,
- c) Krebserkrankungen,
- d) Viruserkrankungen,
- e) Krankheiten, ausgelöst durch einen gestörten Cholesterinstoffwechsel,
- 30 f) dermatologische Krankheiten, ausgelöst durch einen gestörten Zellstoffwechsel bzw. Zellumbau

Auf der Suche nach einer Erklärung für diese, ursprünglich für Nys und Amp beobachteten überraschenden, neuen therapeutischen Wirkungen von Polyen-Makroliden gelang es, ein universa-  
35 les Gesetz der biologischen Regulation zu formulieren, das sogenannte "Bioenergetische Prinzip" (BP). Es handelt sich um ein Energiegesetz, das die Energieumwandlung in den Zellen und im

Organismus beschreibt, und die biologische Regulation erstmalig vollständig und aus kinematischer Sicht erklärt. Mit Hilfe dieses Gesetzes können alle bisher bekannten biologischen und medizinischen Phänomene logisch und zusammenhängend erklärt werden, einschließlich der neuartigen Wirkungsweisen von Polyen-Makroliden. Als Modellsubstanzen wurden bei der Ableitung des Gesetzes Nys und Amp betrachtet. Eine "Allgemeine Theorie der biologischen Regulation und der Medizin" wurde entwickelt. Mit dieser Theorie gelingt es erstmalig, die Krankheitsentstehung unter der Berücksichtigung der neuesten Forschungsergebnisse, einheitlich zu erklären. Mit Hilfe dieser Theorie konnte der Anwendungsbereich der Polyen-Makrolide auf eine Reihe von Krankheiten erweitert und, wie aus dem experimentellen Teil der vorliegenden Beschreibung ersichtlich, experimentell bestätigt werden.

Die vorliegende Erfindung basiert in erheblichem Maße auf der zufälligen und überraschenden Feststellung, daß Polyen-Makrolide, wie Nys und Amp, weitgehend vom Magen-Darm-Trakt resorbiert werden und bisher nicht beobachtete, systemische therapeutische Effekte bewirkten.

Die Wirkung von Nys und Amp beruht, wie aus dem BP abgeleitet werden kann, auf einer Stimulation des Zellmetabolismus durch Zelldepolarisation und Förderung der Energieumwandlung in den Zellen. Dieser Effekt, den man bei allen menschlichen Zellen beobachten kann, ist energetischer Natur und kann sowohl physikalisch als auch mathematisch belegt werden.

Die Erfindung basiert zusätzlich auf der überraschenden Feststellung, daß die chronische Gabe hoher oraler Dosen der Polyen-Makrolide (etwa 10 bis 50-fache höhere Dosen als bei der kurzzeitigen i.v. Gabe vergleichbarer Polyene, wie etwa Amp, das in der Regel im zweitägigem Abstand in einer Dosis von 0,5 bis 1,5 mg/kg Körpergewicht verabreicht wird) zur Heilung einer Reihe bisher unheilbarer chronischer und systemischer Erkrankungen führt, ohne irgendwelche Nebenwirkungen zu verursachen. Darüberhinaus wurde festgestellt, daß deren topische Applikation in etwa 2- bis 10-fach höheren Konzentrationen (etwa 200 000 bis 1 Mio. I.E./g Grundsäbe) als die üblicherweise empfoh-

lenen den Heilungsprozess bei topischen Erkrankungen, wie Wunden, Verbrennungen und trophischen Störungen, erheblich beschleunigt und eine Reihe von Hauterkrankungen zur Heilung bringt.

5        Diese therapeutischen in vivo-Effekte beruhen auf der starken zell-stimulierenden und vor allem immunstimulierenden Wirkung von Polyen-Makroliden. Die neuartigen therapeutischen Effekte sind mit der charakteristischen Molekülstruktur der Poly-

10        Diese Erfindung basiert somit auf einem neuen Verständnis der Krankheitsätiologie, die sich aus dem BP ergibt.

      Gegenstand der Erfindung ist insbesondere die Verwendung von Polyenmakroliden zur Herstellung oral, topisch oder intranasal verabreichbarer pharmazeutischer Mittel zur Behandlung  
15        der in den Ansprüchen und im folgenden Teil der Beschreibung angegebenen Krankheiten.

      Weiterhin betrifft die Erfindung Therapieverfahren zur Behandlung eines Säugetiers, wie z.B. eines Menschen, das an wenigstens einer der hierin angegebenen Erkrankungen leidet.

20        Weitere Gegenstände der Erfindung ergeben sich aus dem experimentellen Teil der Beschreibung sowie den beiliegenden Ansprüchen.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

##### 25    I.    Einleitung

      Im Jahre 1993 wurde zufällig festgestellt, daß Nys und Amp, die bisher nur als Antimykotikum gegen Pilzinfektionen eingesetzt werden, eine Reihe ungewöhnlicher therapeutischer in vivo Effekte bei Behandlung vieler Krankheiten aufweisen. Eine Viel-  
30        zahl an Patienten wurde seitdem mit Erfolg behandelt. Diese neuartigen Therapiewirkungen sind in der Literatur bisher nicht beschrieben worden. Bis zum Zeitpunkt der Erfindung lagen auch keine klinischen Ergebnisse für diese Indikationen vor. Ausgehend von dieser Erfindung, gelang es, ein fundamentales Gesetz  
35        der biologischen Regulation abzuleiten, welches als das "bioenergetische Prinzip" (BP) bezeichnet wird. Es handelt sich um ein Energiegesetz. Mit diesem Gesetz konnte die Regulation der

Zelle und des Organismus, die Entstehung von Krankheiten und die Wirkungsweise von Medikamenten, einschließlich der Polyen-Makrolide, logisch und zusammenhängend erklärt werden (= Allgemeine Theorie der biologischen Regulation). Alle biologischen Prozesse, einschließlich unseres Bewußtseins, werden energetisch gesteuert. Das BP geht vom Energieerhaltungssatz aus und beschreibt die Energieumwandlung in der Natur. Mit Hilfe des BPs, gelang es ein integriertes Modell der physikalischen und der organischen Materie zu entwickeln. Eine detaillierte Beschreibung dieser Theorie erscheint demnächst als Buch beim HAUG Verlag, Heidelberg, Deutschland. Eine Publikation zu diesem Thema wurde von der Zeitschrift "Medical Hypothesis", London, Großbritannien, akzeptiert.

Bisher gab es keine Theorie, welche die biologischen Prozesse energetisch und kinematisch erklärte. Ebenso wenig gab es eine allgemeine Theorie der Krankheitsentstehung und der pharmakologischen Wirkungen. Es kann gezeigt werden, daß zahlreiche Indikationen bekannter Medikamente auf widersprüchlichen, hypothetischen Modellen beruhen. Das BP begründet, warum diese Modelle nicht zutreffen, und warum die meisten beanspruchten therapeutischen Wirkungen in vivo nicht vorhanden sind.

Das BP umfaßt 12 Postulate; die für das Verständnis der vorliegenden Erfindung wesentlichen Postulate sind im folgenden Abschnitt kurz zusammengefaßt. Diese Postulate werden zur Erläuterung der Zellregulation und der Pathogenese wichtiger Krankheiten, deren Behandlung gemäß vorliegender Erfindung erfolgt, herangezogen. Sie werden im allgemeinen Teil ausführlich besprochen.

## 30 II. Postulate des Bioenergetischen Prinzips

1. Die Materie/Energie organisiert sich selbst. Es gibt unendlich viele Ebenen der Selbst-Organisation.
2. Alle Ebenen der Selbst-Organisation der Materie sind offene Systeme. Sie tauschen Energie untereinander aus.
- 35 3. Alle Ebenen der Selbst-Organisation sind Nicht-Gleichgewichtssysteme. Jede Ebene der Selbst-Organisation besitzt einen Energiegradienten, welcher die Entfernung des Systems vom

Gleichgewicht bestimmt. Dieser Energiegradient wird im Rahmen des bioenergetischen Prinzips als "long-range Korrelation" bezeichnet.

4. Die long-range Korrelation ist das Summenprodukt der Energiebeiträge aller Elemente einer Ebene (eines Systems).

5. Das Verhalten eines Nicht-Gleichgewichtssystems wird durch seine long-range Korrelation (Energie-Gradient) global bestimmt. Das Verhalten aller Elemente (Freiheitsgrad) wird von der long-range Korrelation gleichsinnig bestimmt. Ein globales Verhalten ist stets nicht-linear. Nicht-lineares Verhalten ist nicht vorhersagbar.

6. Die long-range Korrelation eines Systems wird durch ständige Fluktuationen (Schwankungen), die ein Produkt von Energieumwandlungen im System sind, aufrechterhalten.

7. Das Ausmaß der Fluktuationen der long-range Korrelation bestimmt den inneren Ordnungszustand (die innere Entropie) des Systems.

8. Die Fähigkeit einer Ebene der Selbst-Organisation ihre long-range Korrelation durch Schwankungen aufrechtzuerhalten garantiert ihre Stabilität. Sie setzt einen ungestörten Energieaustausch mit anderen benachbarten Ebenen voraus. Eine übermäßige Störung des Energieaustausches, welche die Kompensationsmechanismen der selbst-organisierten Ebene überfordert, führt stets zum partiellen oder vollständigen Zusammenbruch der long-range Korrelation. Ein solcher Zusammenbruch wird als "Singularität" oder "Katastrophe" bezeichnet.

9. Die Entwicklung zur höheren Komplexität ist eine innere Bedingtheit aller Nicht-Gleichgewichtssysteme. Die strukturelle Komplexität ( $K_E$ ) einer Ebene der Selbst-Organisation nimmt mit dem Quadrat der Zeit zu:

$$K_E = E \cdot t^2$$

E ist die Energie, die in der Zeit t ausgetauscht wird. Dieses Gesetz heißt "das quadratische Zeitgesetz der Struktur-Komplexität" oder "das Evolutionsgesetz".

10. Jede Ebene der Selbstorganisation besteht aus vielen anderen Ebenen und ist zugleich Teil anderer Ebenen.

11. Die Energieumwandlung für jede Ebene der Selbstorganisa-

tion kann mit der universellen Formel

$$E_A = p \cdot \lambda$$

für eine Umwandlung und

$$E = E_A \cdot f$$

- 5 für mehrere Umwandlungen pro Zeiteinheit dargestellt werden  
( $p$  = Impuls,  $\lambda$  = Wellenlänge einer Fluktuation,  $f$  = Frequenz der  
Fluktuationen,  $E_A$  = Energieumsatz einer Umwandlung).

### III. Die Zellregulation folgt dem BP

- 10 Die Zelle und der Organismus sind energetische Gebilde. Ohne  
Energiezufuhr in Form von Nahrung (Substrate) gibt es kein Le-  
ben. Die Substrate gelten in den Biowissenschaften als Träger  
der chemischen Energie. Alle Versuche, die biologische Regula-  
tion zu erklären, finden im (bio)chemischen Bereich statt. Be-  
15 zeichnenderweise kennt die Physik die chemische Energie als  
eigenständige Kraft nicht (in der Physik werden Energie ( $E$ ) und  
Kraft ( $F$ ) oft gleichgesetzt, obwohl sie unterschiedliche Obser-  
vablen sind,  $E = F \cdot s$ ,  $s$  = Weg). Die 4 fundamentalen Kräften  
(auch Wechselwirkungen) sind: die Gravitation, die elektroma-  
20 gnetischen Kräfte, die hadronischen (starken) Kräfte und die  
schwachen Kräfte. Die chemischen Kräfte sind in Wirklichkeit  
elektromagnetische Kräfte. Die ionischen und die kovalenten  
Bindungen, die Wasserstoffbrücken, die polaren Bindungen und  
die van-der-Waalschen Kräfte, welche für die chemischen Verbin-  
25 dungen verantwortlich sind, sind nur unterschiedliche Erschei-  
nungsformen der elektromagnetischen Kräfte. Die zwei fundamen-  
talen Begriffe der Chemie - das Molekülorbital und die kovalen-  
te Bindung sind räumliche Abstraktionen und entsprechen Lösun-  
gen der Wellenfunktion der Quantenmechanik. Begrifflich und  
30 semantisch betrachtet, ist die (Bio)chemie ein metaphysischer  
Ableger der Physik. Dies ist ein erster wichtiger Hinweis, war-  
um man bisher nicht in der Lage war, eine zusammenhängende  
Theorie der biologischen Regulation zu entwickeln.

- Im folgenden Abschnitt werden in verdichteter Form die  
35 wesentlichen Schritte des Zellmetabolismus zusammenfassend er-  
läutert. Die Substrate der Nahrung, die Kohlenhydrate (KH), die  
Eiweiße und die Fette, werden, gekoppelt an Ionen-Transporte

oder durch Endocytose, aktiv in die Zelle aufgenommen. Die großen metabolischen Wege im Zytoplasma stellen eine komplexe Redox-Kaskade dar, die intermediäre Substanzen produziert. Zusammen mit den Abbauprodukten der  $\beta$ -Oxydation, werden diese im Citratsäurezyklus in den Mitochondrien vereint und weiter abgebaut. Der Abschluß des Zellmetabolismus findet in der Zellatmungskette (der oxydativen Phosphorylierung) statt. Das Endprodukt der Zellatmung sind nach der stöchiometrischen Summengleichung



Elektronen und Protonen. Die Protonen werden von der Protonenpumpe der Zellatmungskette auf die zytoplasmatische Seite der mitochondriellen Innenmembran gepumpt und bilden einen elektrischen (elektromagnetischen) Gradienten von ca. 220 mV. Dieser Gradient ist auf delokalisierte Weise (Chemiosmotische Theorie von P. Mitchell) mit der Produktion von ATP in den Mitochondrien gekoppelt. Die ATP-Produktion ist dem Mitochondriengradienten proportional. ATP wird dem Zellmetabolismus zur Verfügung gestellt. Zur Zeit gilt ATP als der universale Träger der Energie in der Zelle. Viele Reaktionen des Zellmetabolismus sind ATP-gekoppelt. Der Hauptanteil (50 bis 70%) des ATP wird von den ATP-asen verbraucht, um Ionen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) durch die biologischen Membranen gegen deren Gradienten zu pumpen und somit elektrische Potentiale an der Plasmamembran und an anderen intrazellulären Membranen aufzubauen.

Diese knappe Darstellung des Zellmetabolismus offenbart eine fundamentale Tatsache. Als Endprodukt des gesamten Zellmetabolismus werden elektrische Membranpotentiale in der Zelle gebildet. Alle biologischen Membranen weisen einen elektrischen Gradienten auf. Die Energie der Substrate bezeichnen wir als chemische Energie, obwohl es sich in Wirklichkeit um elektromagnetische Strukturernergie der Moleküle handelt. In diesem Fall ist es offenkundig, daß der Zellmetabolismus aus unzähligen Umwandlungen von chemischer in elektrische Energie und umgekehrt besteht: chemische Energie der Substrate  $\rightleftharpoons$  Protonengradient der Mitochondrienmembran  $\rightleftharpoons$  ATP-Produktion  $\rightleftharpoons$  Plasmamembrangradient usw. Energetisch und bilanztechnisch ist diese

Tatsache in den Biowissenschaften bisher nicht verstanden worden. Berücksichtigt man den Energieerhaltungssatz, dann kommt man automatisch zu dem Schluß, daß die gesamte effektive Nahrungsenergie in elektrische Energie der Membranpotentiale der Zellen umgewandelt wird. Die effektive Nahrungsenergie ist diejenige Energie, die nach Abzug der Wärme (ca. 60%), welche an die Umgebung abgegeben wird, im Körper verbleibt und für die Körperfunktionen effektiv verwertet wird. Trifft eine solche Energieumwandlung für die Zelle zu, würde diese die Biowissenschaften wesentlich beeinflussen (siehe unten).

Diese Schlußfolgerung wird nun durch eine Energiebilanzrechnung für den menschlichen Organismus verdeutlicht. Für die Bilanz werden nur bekannte experimentelle Daten verwendet.

Der durchschnittliche Ruheumsatz eines Menschen beträgt etwa 1.500 kcal (= 6270 kJ). Etwa 60% (3762 kJ) wird als Wärme an die Umgebung abgegeben. Die verbleibende effektive chemische Energie (Strukturenergie) im Körper beträgt:

$$E_{\text{eff}} \cong 2.500 \text{ kJ } (25 \cdot 10^5 \text{ J})$$

Im folgenden wird gezeigt, daß die gespeicherte elektrische Energie ( $E_{\text{el}}$ ) an den Membranpotentialen der Körperzellen der  $E_{\text{eff}}$  gleichzusetzen ist. Zuerst ist die Anzahl aller Körperzellen zu berechnen. Betrachtet man eine Durchschnittszelle als sphärisch mit einem Durchmesser von ca. 10  $\mu\text{m}$ , mit einem durchschnittlichen Zellvolumen von etwa  $3 \cdot 10^{-16} \text{ m}^3$  und mit einem durchschnittlichen Gewicht von etwa  $3 \cdot 10^{-13} \text{ kg}$ , dann beträgt die Anzahl aller Körperzellen (N) bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 70 kg:

$$N = 70 \text{ kg} : 3 \cdot 10^{-13} \text{ kg} = 2,3 \cdot 10^{14}$$

Die Anzahl der Zellen unseres Körpers liegt somit in der Größenordnung von etwa  $10^{14}$ . Diese Schätzung stimmt mit den Zahlen aus der Literatur überein.

Um die gespeicherte elektrische Energie der Membranpotentiale zu berechnen, werden nun die biologischen Membranen als Kondensatoren betrachtet und die entsprechenden Formeln der Elektrizitätslehre angewendet. Die Außenseite der Plasmamembran wird als die positiv geladene Platte eines Kondensators be-

trachtet und die Innenseite als die negativ geladene Seite des Kondensators. Das Ruhepotential einer Körperzelle  $V_R$  liegt im Durchschnitt bei - 90 mV (wie z.B. bei einer Herzmuskelzelle). Entscheidend für die Berechnung ist jedoch das Aktionspotential  $V_p$ , das bedingt durch den "Overshoot" am Ende der Depolarisationsphase eine maximale Spannungsdifferenz von etwa 120 mV erreicht. Während eines Aktionspotentials kommt es zu einer Entladung (Depolarisation) und zu einem erneuten Aufbau der Spannung (Repolarisation). Aus diesem Grund wird in der Bilanzrechnung das Aktionspotential  $V_p$  von 120 mV als Potentialdifferenz eingesetzt. Die gespeicherte Energie an Kondensatoren kann mit der Formel

$$E = \frac{1}{2} QV \quad (1)$$

berechnet werden ( $V$  = Plasmapotential und  $Q$  = Ladung). Die Ladung  $Q_p$ , die durch die Plasmamembran separiert wird, errechnet sich aus der Formel

$$Q_p = \frac{A_p \cdot V_p}{4 \cdot \pi \cdot k \cdot d} = \frac{3,14 \cdot 10^{-10} m^2 \cdot 120 \cdot 10^{-3} V}{4 \cdot 3,14 \cdot 9 \cdot 10^9 N \cdot m^2 \cdot C^{-2} \cdot 20 \cdot 10^{-10} m} = 1,66 \cdot 10^{-13} C \quad (2)$$

( $A_p$  = Fläche der Plasmamembran,  $k$  ist die Coulombsche Konstante =  $9 \cdot 10^9 \text{ Nm}^2 \text{C}^{-2}$ ,  $d$  ist die Dicke der Lipiddoppelschicht =  $20 \times 10^{-10} \text{ m}$  und  $V_p$  ist die Spannung eines Aktionspotentials = 120 mV. Die Fläche der Plasmamembran ist  $A_p = 4 \cdot \pi \cdot r^2 = 3,14 \times 10^{-10} \text{ m}^2$ ).

Man kann aus dem Ruhepotential  $V_R = 90 \text{ mV}$  (absoluter Wert) die maximale elektrische Kraft  $F_p$  errechnen, die eine Zelle an der Plasmamembran aufbaut:

$$F_p = \frac{V_R}{d} = \frac{90 \cdot 10^{-3} V}{20 \cdot 10^{-10} m} = 4,5 \cdot 10^7 \text{ Vm}^{-1}$$

Die elektrische Kraft des Plasmamembranpotentials liegt somit in der Größenordnung von 10 Millionen Volt/Meter. Solche Spannungen entstehen nur bei Blitzen in der Stratosphäre. Auch wenn

$F_E$  auf kleinsten Entfernungen wirkt, so spüren alle integralen Proteine und alle Zellelemente diese Kraft in ihrer vollen Wirkung (siehe unten). Die elektrische Kraft ist ein Vektor. Er verändert seine Größe und Richtung im Verlauf eines Aktionspotentials und kann vorübergehend den Wert = 0 annehmen. Die elektrische Energie des Plasmagradients  $E_p$ , welche während eines Aktionspotentials umgesetzt wird, beträgt nach der Formel (1):

$$E_p = \frac{1}{2} Q_p V_p = \frac{1}{2} \cdot 1.66 \cdot 10^{-13} C \cdot 120 \cdot 10^{-3} V = 99,6 \cdot 10^{-16} J$$

$$E_p = 10^{-14} J$$

10

Das elektrische Potential der mitochondrialen Innenmembran  $V_m$  kann ebenfalls experimentell bestimmt werden und beträgt ca. 220 mV. Wie für das Plasmapotential der Zelle, kann man alle relevanten Werte für die Mitochondrie ableiten und daraus die gespeicherte elektrische Energie des Mitochondrienpotentials berechnen: Oberfläche der mitochondriellen Innenmembran (unter Berücksichtigung der Cristae)  $A_m = 4 \times 10^{-12} m^2$ , Ladung  $Q_m = 0,39 \times 10^{-14} C$ ,  $F_m = 11 \times 10^7 Vm^{-1}$  und gespeicherte elektrische Energie eines Mitochondrions  $E_M = 0,4 \times 10^{-15} J$ .

Die Energie des Plasma- und des Mitochondrienpotentials macht den Hauptanteil der elektrischen Energie der Zelle aus. Dies ergibt sich zum einen aus der Tatsache, daß die Redox-Energie des gesamten Zellmetabolismus in die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien mündet und den Mitochondriengradienten aufbaut und zum anderen, weil der Hauptanteil der zellulären ATP-Produktion von den ATP-asen (z.B.  $Na^+ / K^+$ -ATP-ase) der Plasmamembran verbraucht wird. Sie pumpen Ionen gegen den Gradienten und bauen nach einer Depolarisation (= Freisetzung der gespeicherten elektrischen Energie) das Ruhepotential (Repolarisation) wieder auf. Da alle intrazellulären Kompartimente elektrische Gradienten aufweisen - häufig werden sie als pH-Gradient gemessen (z.B. in den Lysosomen) - speichern sie auch geringe Mengen elektrischer Energie. Diese Energie kann zur Zeit nur in etwa geschätzt werden. Die gesamte elektrische

Energie einer Zelle  $E_{\text{Zelle}}$  kann man errechnen, wenn man die Energie des Plasmapotentials und die Energien aller intrazellulären Potentiale addiert:

$$E_{\text{Zelle}} = E_p + n \cdot E_m + E_{\text{Golgi}} + \dots \quad (3)$$

$$E_{\text{Zelle}} = 1 \cdot 10^{-14} \text{ J} + n \cdot 0,4 \cdot 10^{-15} \text{ J} + \dots + \approx 10^{-13} \text{ J}$$

(n ist die Anzahl der Mitochondrien in der Zelle). In Zellen mit hohem Energieumsatz ist n groß. Muskelzellen weisen dicht gepackte Mitochondrien auf. Ruhende Zellen enthalten nur wenige Mitochondrien. Eine Dauerrepolarisation der Zellen führt zu einer Abflachung der Cristae der mitochondrialen Innenmembran. Die Fläche  $A_m$  nimmt ab und damit auch die mitochondriale elektrische Energie  $E_m$  ( $E_m$  ist proportional zu  $A_m$ ). Eine Dauerdepolarisation führt zu einer Vergrößerung der Cristae. Aus diesen Beispielen erkennt man bereits, daß die Zellen über die elektrische Energie der Membranpotentiale gesteuert werden. Das Plasmapotential und alle intrazellulären Potentiale können als hintereinander geschaltete Kondensatoren betrachtet werden. Ihre Potentiale und Energien können addiert werden. Sie stehen über das Zytoplasma in Kontakt. Das Zytoplasma folgt dem Prinzip der Elektroneutralität. Es besagt, daß an jedem Ort des Zytoplasmas die selbe Ionenverteilung vorliegt. Das Plasmapotential und die intrazellulären Potentiale befinden sich somit in einem dynamischen Gleichgewicht. Jede Depolarisation des Plasmapotentials führt zu einer gleichwertigen Repolarisation der intrazellulären Membranpotentiale. Jede intrazelluläre Repolarisation führt zu einer entsprechenden Umwandlung in chemische Energie. Eine Zunahme des Potentials  $V_m$  führt z. B. über die delokalisierte Kopplung zu einer Zunahme der ATP-Produktion.

Während eines Aktionspotentials, das aus einer Depolarisations- und einer Repolarisationsphase besteht, wird also die gespeicherte elektrische Energie der Zelle in chemische Energie umgewandelt (Depolarisation) und umgekehrt (Repolarisation). Deswegen kann man  $E_{\text{Zelle}}$  als  $E_A$  gleichsetzen.  $E_A$  ist die elektri-

sche Energie, die während eines Aktionspotentials freigesetzt und in chemische Energie in der Zelle umgewandelt wird.

$$E_{\text{Zelle}} \approx E_A \approx 1.10^{-13} \text{ J}$$

5 Die Zelle ist bekanntlich kein perpetuum mobile. Über 60% der Nahrungsenergie wird als Wärme an die Umgebung abgegeben. Die Zelle benötigt ständige Energiezufuhr in Form von Substraten, um die Energieumwandlungen in ihrem Inneren aufrechtzuerhalten. Um diese Energiezufuhr an den Zellbedarf anzupassen,  
 10 müßte sie an die Häufigkeit der Energieumwandlungen (Energieumsatz) in irgend eine Weise gekoppelt sein. Diese Forderung wird von der Zelle tatsächlich erfüllt. Die Substratzufuhr in die Zelle ist an die Energieumwandlung der Membranpotentiale direkt gekoppelt. Der Kohlehydrat- und Aminosäure-Transport  
 15 durch die Zellmembran ist energetisch an den  $\text{Na}^+$ -Einstrom in die Zelle gekoppelt (Symport). Der  $\text{Na}^+$ -Einstrom in die Zelle ist für die Depolarisation des Aktionspotentials verantwortlich. Damit ist die Kopplung zwischen Energieumwandlung in der Zelle und Energieversorgung von außen eindeutig geklärt (in den  
 20 letzten Jahren wurden Substrat-Symporte, die an anderen Ionenströmen gekoppelt sind, entdeckt.). Mit jedem Aktionspotential, das einen spezifischen, konstanten Energieumsatz für jede Zelle darstellt, wird eine bestimmte (konstante) Menge an Substraten in die Zelle geschleust, um den Energiebedarf des Zellmetabo-  
 25 lismus zu decken. Das Aktionspotential stellt einen energetischen "output" der Zelle dar, das Symport einen "input" (siehe unten). Durch ihre periodischen Aktionspotentiale, bzw. Potentialschwankungen, befindet sich die Zelle in einem ständigen Energieaustausch mit der Umgebung. Die Energie, die eine Zelle  
 30 pro Zeiteinheit verbraucht, kann man berechnen, indem man die Energie, die während eines Aktionspotentials umgesetzt wird,  $E_A$ , mit der Anzahl der Aktionspotentiale multipliziert:

$$E = E_A \cdot f \quad (4)$$

(f ist die Frequenz der Aktionspotentiale pro Zeiteinheit t).

35 Die Energie, die eine Zelle, z.B. eine Herzmuskelzelle, innerhalb t umsetzt, hängt entscheidend von f ab, ebenso wie die

Energiezufuhr. Unter Belastung steigt nur die Frequenz  $f$  und die Länge des Aktionspotentials  $\lambda$  nimmt entsprechend ab, während die Höhe des Aktionspotentials  $V_p$  und damit die Energie  $E_A$ , die während eines Aktionspotentials umgesetzt wird, weitgehend konstant bleibt.  $E_A$  wird nun in kürzeren Zeitabständen umgesetzt.  $E_A$  ist für jede Zelle eine spezifische und über die Zeit weitgehend konstante Größe. Sie hängt von den intrinsischen Eigenschaften der Zelle - dem Zellmetabolismus, der Zusammensetzung integraler Proteine an der Plasmamembran und anderer Zellsysteme - ab. Die Energie, die einer Herzmuskelzelle während eines Tages verbraucht, kann aus der Formel (4) leicht berechnet werden. Bei einer durchschnittlichen Herzfrequenz von 72 Schlägen/min durchläuft eine Herzmuskelzelle 103680 Aktionspotentiale ( $72 \text{ Schläge} \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ h}$ ) innerhalb eines Tages. Diese Zahl gibt uns eine Vorstellung von der Dynamik der Energieumwandlungen in der Zelle. Die bisherige Betrachtungsweise der Zelle ist dagegen ausgesprochen statisch.

Hinsichtlich des Energieumsatzes kann man die Körperzellen grundsätzlich in drei große Gruppen aufteilen: die Gruppe der Muskelzellen (glatte und gestreifte), die Gruppe der Neuronen und die heterogene Gruppe der übrigen Zellen. Die Zellen der ersten zwei Gruppen gelten als exzitatorisch, weil sie ausgeprägte Aktionspotentiale aufweisen. Mittlerweile weiß man jedoch, daß auch alle anderen Zellen Depolarisationen oder Repolarisationen im Rahmen ihrer Tätigkeit aufweisen, auch wenn diese Potentialschwankungen meistens diskreter Natur sind. Manche Zellen der 3. Gruppe kann man als ruhende Zellen bezeichnen, wie z.B. die ruhenden Immunzellen, andere wie die Tubuluszellen der Niere arbeiten unter maximaler Belastung. Alle bisher untersuchten physiologischen Substanzen (Hormone, Neurotransmitter, Lymphokine und andere humorale Immunfaktoren) führen zu Potentialschwankungen bei den Zellen dieser Gruppe. Die De- bzw. Repolarisationseigenschaften der Neurotransmitter, der Lymphokine und der Hormone bei exzitatorischen Zellen sind seit langem bekannt.

Die Herzmuskelzelle kann man als eine Körperzelle mit einem durchschnittlichen Energieumsatz betrachten. Die gestreif-

ten Muskelzellen des Bewegungsapparates und die Neuronen weisen eine erheblich höhere Erregungsfrequenz als die Herzmuskelzellen auf. Sie variiert zwischen 5 (in gestreiften Muskelzellen) und 100 (in manchen Neuronen) Aktionspotentialen pro Sekunde.

5 Diese Zellen haben nach der Formel (4) einen höheren Energieumsatz als die Herzmuskelzelle. Messungen des Sauerstoffverbrauchs in diesen Geweben bestätigen diese Berechnung. Die Zellen der dritten Gruppe haben durchschnittlich einen niedrigeren Energieumsatz als die Herzmuskelzellen.

10 Ausgehend von diesen Überlegungen, wurde eingangs das Aktionspotential einer Herzmuskelzelle berücksichtigt.  $E_A$  der Herzmuskelzelle beträgt somit  $1 \cdot 10^{13} \text{ J}$ .  $E_A$  ist die durchschnittliche elektrische Energie, die in den Körperzellen gespeichert wird und während eines Aktionspotentials in chemische Energie  
15 des Zellstoffwechsels (Strukturenergie) umgewandelt wird. Wenn man  $E_A$  mit der Anzahl aller Körperzellen  $N$  multipliziert, erhält man den Summenwert ("aggregated product") der elektrischen Körperenergie, die in unserem Körper in weniger als einer Sekunde umgesetzt wird. Da die Aktionspotentiale der Körperzellen  
20 in Wirklichkeit nicht synchron ablaufen, kann man diese Energie etwa mit der gespeicherten elektrischen Energie, die unserem Körper jederzeit zur Verfügung steht, gleichsetzen.

$$E_{A_N} = E_A \cdot N = 1 \cdot 10^{13} \text{ J} \cdot 2,3 \cdot 10^{14} = 23 \text{ J}$$

Dieser Energiewert, der sich bei einer statischen Betrachtung  
25 des Stoffwechsels ergibt, ist sehr gering. Dieser Umstand könnte erklären, warum man bisher die Rolle der elektrischen Energie in der Biologie übersehen hat. Wenn man die Dynamik der Energieumwandlungen in den Zellen innerhalb eines Tages berechnet, indem man mit der Frequenz  $f$  multipliziert, dann ergibt  
30 sich ein wesentlich höherer Energiewert:

$$E_{E1} = E_{A_N} \cdot f = 23 \text{ J} \cdot 103680 = 2385 \text{ kJ} = 23,85 \cdot 10^5 \text{ J}$$

$$E_{Eff} = 2500 \text{ kJ} \approx E_{E1} = 2385 \text{ kJ}$$

Wir erhalten am Ende unserer Energiebilanzrechnung das erwartete Ergebnis: die effektive chemische Energie der Nahrung, die  
35 in unserem Körper verbleibt, wird fast vollständig in elektri-

sche Energie der Membranpotentiale der Zellen umgewandelt. Dies ist ein bemerkenswertes Ergebnis, denn: a) zum ersten Mal ist eine Energiebilanz unseres Körpers auf der Zellebene erstellt worden; b) die Energiebilanz beruht auf experimentellen Daten  
5 der elektrophysiologischen Forschung, die seit vielen Jahren bekannt sind; c) diese Bilanz wurde unter Anwendung allgemein bekannter physikalischer Gesetze (des Energierhaltungssatzes und der Gesetze der Elektrizitätslehre) abgeleitet; d) trotz einiger unvermeidbarer Näherungswerte, welche sich aus der un-  
10 vorstellbaren Komplexität des menschlichen Körpers ergeben, ist es uns gelungen, eine exakte Bilanzrechnung durchzuführen.

In dieser Bilanz wurden die Zellen als unsterblich betrachtet. In Wirklichkeit befindet sich der Organismus in einem ständigen Prozess des Umbaus. Schätzungsweise sterben etwa 10  
15 Milliarden Zellen pro Sekunde. Manche Gewebe, wie die Mukosa, werden innerhalb weniger Tage vollständig erneuert, andere, wie die Neuronen, bleiben für immer bestehen. Berücksichtigt man eine turn-over-Rate des Zellumbaus von ca. 3-5 % pro Tag, so kommt man auf  $E_{\text{eff}} = E_{\text{el}} = 2500 \text{ kJ}$ .

20 In dieser Bilanzrechnung wurde die Energie derjenigen chemischen Substanzen, die von der Zelle ausgeschieden werden und an der suprazellulären Regulation teilnehmen, nicht berechnet. Der Grund dafür ist, daß bei dem input-output Modell, welches dieser Bilanzrechnung implizit zugrundeliegt, die Energie der  
25 ausgeschiedenen Substanzen aller Zellen, gleich der Energie der Substanzen ist, die mit ihnen in Wechselwirkung treten. Input und output heben sich somit auf.

#### 30 IV. Erläuterung des Bionergetischen Prinzips anhand der Zellregulation

Es wurde gezeigt, daß der Stoffwechsel organischer Materie mit der allgemeinen physikalischen Formel  $E = E_A \cdot f$  (4) ausreichend beschrieben werden kann. Diese Formel gilt sowohl für die einzelne Zelle als auch für den gesamten Organismus. Dies ist  
35 der Ausgangspunkt für die Formulierung eines universalen Gesetzes der Energieumwandlung. Die oben erwähnten Postulate des BPs stellen in verdichteter, deskriptiver Form die Grunder-

kenntnisse des Gesetzes dar. Diese Postulate des BP sollen anhand der Zellregulation kurz erläutert werden.

1. Postulat: Ausgehend vom Einsteinschen Prinzip der Äquivalenz zwischen Materie und Energie ist Materie als gebundene Energie zu betrachten. Das 1. Postulat besagt, daß sich die Materie/Energie selbst-organisiert. Es gibt unzählige Beispiele der Selbst-Organisation in der Natur. Die Anordnung von Lipidmolekülen zu Doppelschichten in ionischer Lösung aufgrund der unterschiedlichen elektromagnetischen Anziehungskräfte der Moleküle ist ein klassisches Beispiel des Selbst-Organisationsprinzips. Nicht zufällig sind biologische Membranen der Ort der Energiespeicherung in der Zelle.

Sowohl die organische als auch die anorganische Materie besteht aus vielen Ebenen der Selbst-Organisation. Eine Ebene besteht aus unzähligen Systemen, die Repräsentanten dieser Ebene sind. Die Zelle ist die fundamentale Ebene der lebendigen Materie. Es gibt unzählige Zellarten. Sie bildet Organe, Organismen, Spezies, Evolution und Bewußtsein als die komplexeste Ebene der Selbst-Organisation. Andererseits besteht die Zelle aus chemischen Molekülen, Elementen und Elementarteilchen (Mikrokosmos). Diese bilden das Universum (den Makrokosmos), das die organische Materie enthält. Alle Ebenen bilden einen geschlossenen Kreis. Die Geschlossenheit des Universums ergibt sich vor allem aus dem Energieerhaltungssatz, welcher die Grundlage des BPs bildet. Ein offenes Universum würde die Vernichtung von Energie bedeuten und dem Energieerhaltungssatz widersprechen. Die Existenz selbst-organisierter Ebenen sagt noch nichts über den Mechanismus der Selbst-Organisation aus. Das BP zeigt, daß es sich um einen energetischen Vorgang handelt. Die darauffolgenden Postulate erklären diesen Vorgang.

2. Postulat: Innerhalb des Universums sind alle Ebenen bzw. ihre Systeme offen, d.h. sie tauschen Energie untereinander aus. Man kann sie mit Hilfe eines komplexen input-output Modells darstellen. Die Zelle und der Organismus sind z.B. offene Systeme und tauschen Energie (Wärme, Nahrung, Arbeit) mit der Umgebung aus. Eine Unterbrechung des Energieaustausches führt zum Tod = Dissipation der Selbst-Organisation dieser Ebe-

nen.

3. Postulat: Alle Ebenen sind Nicht-Gleichgewichtssysteme und jede Ebene besitzt einen Energiegradienten, der die Entfernung des Systems vom Gleichgewicht bestimmt. Nach dieser Definition ist das Nicht-Gleichgewicht ein Energiegradient. Wenn  
5 der Energiegradient den Wert 0 erreicht, ist das System im Gleichgewicht. Das Gleichgewicht ist nicht der normale Zustand, den jedes System anstrebt, sondern nur ein Spezialfall. Der Normalfall ist das Nicht-Gleichgewicht. In der Zelle bestimmen  
10 die elektrischen Membrangradienten das Nicht-Gleichgewicht. Die elektrische Kraft dieser Gradienten liegt in der Größenordnung von 10 Millionen Volt (Ruhepotential). Sie kann aber während eines Aktionspotentials vorübergehend den Wert 0 annehmen.

Der Energiegradient einer Ebene, bzw. seine Kraft, ist der  
15 Motor der Selbst-Organisation. Wir nennen diese Kraft die "long-range Korrelation", LRK.

4. Postulat: Die LRK ist das Summenprodukt (aggregated product) der Energiebeiträge aller Elemente eines Nicht-Gleichgewichtssystems. Dies wurde in der Bilanzrechnung bewiesen. Die  
20 Energie, die aus dem gesamten Zellmetabolismus gewonnen wird, wird in elektrische Energie der Membrangradienten umgewandelt und umgekehrt. Man kann das 4. Postulat auch folgendermaßen definieren: die LRK ist das Energie-Integral aller Energie-inputs des Systems zu einem bestimmten Zeitpunkt. LRK ist eine  
25 dynamische Größe und ändert sich ständig innerhalb eines Aktionspotentials. Die Schwankungen der LRK sind jedoch periodisch. Der Energiewert eines Aktionspotentials bleibt in der Zeit weitgehend konstant.

5. Postulat: Die LRK bestimmt das Verhalten des Nicht-  
30 Gleichgewichtssystems. Daher die Bezeichnung "long-range Korrelation". In der Zelle herrscht eine elektrische Kraft  $F_E$  in der Größenordnung von  $10^7 \text{ Vm}^{-1}$  (SI-Einheiten). In derselben Größenordnung ist das chemische Gleichgewicht aller Reaktionen in der Zelle verschoben. Wir werden dies anhand der ATP-Spaltung verdeutlichen. Das Gleichgewicht der Reaktion  $\text{ATP} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{P}^*$ , welche  
35 konventionellerweise als die universelle Energiequelle der Zelle betrachtet wird, liegt auf der rechten Seite: ATP (Mol) :

ADP (Mol) =  $10^{-6}$  (Mol ist SI-Einheit). In der Zelle findet man jedoch ein anderes Verhältnis (Atkinson's ratio) ATP : ADP = 10:1. Das Gleichgewicht ist also um Faktor  $10^7$  nach links, zugunsten von ATP, verschoben. An dieser Reaktion sind sehr viele

5 Reaktionen in der Zelle gekoppelt und befinden sich im selben Nicht-Gleichgewicht. Die Primärursache ist jedoch nicht das Nicht-Gleichgewicht der ATP-Reaktion, sondern die elektrische Kraft, welche das Nicht-Gleichgewicht aller Reaktionen gleichsinnig bestimmt.

10 In einem System wird das Verhalten (der Freiheitsgrad) aller Elemente von der LRK gleichsinnig und gleichzeitig bestimmt. In dem Maße, indem die LRK kleiner wird, steigt der Freiheitsgrad aller Elemente. Der Begriff "Freiheitsgrad" beschreibt die lokalen Energien der Systemelemente, welche zunehmen, sobald die LRK abnimmt (=Energieerhaltungssatz). Die

15 Zunahme des Freiheitsgrades führt zu Energieumwandlungen, welche die LRK erneut aufbauen (Periodizität). Der Freiheitsgrad der biochemischen Strukturen in der Zelle ist, chemische Reaktionen einzugehen, welche die  $F_E$  der Membrangradienten wiederaufbauen.

20 ATP wird zu ADP und  $P^*$  abgebaut, um Ionen gegen den Gradient zu pumpen und das Ruhepotential herzustellen. Jede Reaktion in der Zelle verläuft spezifisch ab. Die Reaktionsgeschwindigkeit aller Reaktionen wird jedoch durch die elektrische Kraft global und gleichsinnig bestimmt. Im Rahmen eines Aktionspotentials

25 nimmt  $F_E$  unterschiedliche (unendlich viele) Werte an. Dies erklärt die feinabgestimmte Anpassung des Zellmetabolismus. Die LRK (= die  $F_E$  der Membrangradienten) ist die treibende Kraft der Zellregulation.

Die LRK bestimmt global der Freiheitsgrad aller Systemelemente. Das globale Verhalten aller Nicht-Gleichgewichtssysteme

30 ist in der Chaos-Theorie hinreichend geklärt worden. Die LRK und die Energiebeiträge der Systemelemente bilden über die Energieumwandlung ein rekursives, rückgekoppeltes System. Auf diese Weise ändern sich die Anfangsbedingungen des Nicht-

35 Gleichgewichtssystems fortlaufend. Das Verhalten solcher Systeme ist bekanntlich nicht-linear und daher nicht-vorhersagbar.

Dieses Postulat integriert die wichtigsten Erkenntnisse der Chaos Theorie.

Reflexe, Anpassung der Organismen an die Umwelt, Krankheiten usw. sind stets globale Ereignisse. Ungeachtet dessen gehen die grundlegenden Paradigmata in den Biowissenschaften (Schlüssel-Schloß-Konzept, messenger-Konzept, Rezeptor-Spezifität, spezifische Wirkung der Medikamente, usw.) von einem spezifischen, lokalen Verhalten organischer Systeme aus (reduktionistisch-deterministische Betrachtungsweise). Das BP führt zu einem fundamentalen Wechsel der Paradigmata in der Wissenschaft (Kuhn, Lakatos). Alle Ereignisse haben einen globalen Charakter und können nur aus ihrer Globalität heraus verstanden werden. Damit wird auch das Kausalitätsprinzip verworfen (siehe Hume), das in der Medizin zur Zeit vorherrschend ist. Das BP ermöglicht eine logische und zusammenhängende Theorie über die Ätiologie aller Krankheiten und zwar unter der prospektiven Berücksichtigung der neuesten experimentellen Ergebnisse auf diesem Gebiet (siehe unten).

6. Postulat: Die LRK wird durch ständige Fluktuationen (oder Aktionspotentiale), welche ein Produkt von Energieumwandlungen im System sind, aufrechterhalten. Der Energieaustausch mit den benachbarten Ebenen erfolgt im Rahmen dieser Fluktuationen. Wir haben dies für die Substrate gezeigt. Der Kohlehydrat- und Eiweiß-Symport in die Zelle ist an die Depolarisation des Plasmapotentials (Na-Einwärtstrom) gekoppelt. Ein Aktionspotential ist eine immanente Eigenschaft des Systems. Es ist das Energie-Produkt des gesamten Systems und daher system-spezifisch. Der Energiebetrag  $E_A$  ist weitgehend konstant. Der Energieumsatz kann nur über die Frequenz  $E = E_A \cdot f$  erhöht oder vermindert werden. Ständige Fluktuationen sind eine unabdingbare Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der LRK und damit für die Aufrechterhaltung des Nicht-Gleichgewichts im System. "Nicht-Gleichgewicht ist Leben - Gleichgewicht ist Tod" (E. Schroedinger, Was ist Leben, 1943). Ein ungestörter Energieaustausch mit den benachbarten Ebenen ist daher unerlässlich für die Aufrechterhaltung der LRK (siehe nächstes Postulat).

7. Postulat: Der innere Ordnungszustand (Entropie) hängt

von den periodischen Schwankungen der LRK ab. Dieses Postulat leitet sich aus den 5. und 6. Postulaten ab: die Entropie (S) des Systems ergibt sich aus den Freiheitsgraden (Z) aller Systemelemente ( $dS = R \cdot \ln Z_1 : Z_2$ ,  $dS$  = Entropieänderung,  $R$  = universale Gaskonstante,  $Z_{1,2}$  = Freiheitsgrade). Der ordentliche Ablauf eines Aktionspotentials ist entscheidend für die Funktion der Systemelemente. Die adequate Kontraktion einer Muskelzelle hängt entscheidend von ihrem Aktionspotential ab. Das Aktionspotential stellt die Umwandlung eines Energiebetrages  $E_A$  dar, der für jedes System weitgehend konstant ist.  $E_A$  ist eine Funktion des Systems und hängt entscheidend vom ungestörten Energieaustausch mit den benachbarten Ebenen ab (6. Postulat). Es kann gezeigt werden, daß alle physiologischen Faktoren über ausgeprägte Dipoleigenschaften verfügen und die Energieumwandlung der Membranpotentiale fördern. Der periphere Neurotransmitter, Acetylcholin z. B. führt zur Depolarisation, der zentrale inhibitorische Neurotransmitter, GABA, zur Repolarisation. Die Moleküle der beiden Substanzen sind ausgeprägte Dipole.

Wenn die Energieumwandlung gehemmt wird - jede Hemmung ist ebenfalls energetischer Natur - sinkt die Zelleistung ab. Chemische Substanzen mit bestimmten dielektrischen Eigenschaften hemmen die Energieübertragung an der Plasmamembran. 90% aller Medikamente, die sich derzeit auf dem Markt befinden, besitzen solche Eigenschaften. Sie werden als zell-hemmend definiert. Ihre aktuellen Bezeichnungen verweisen auf ihre zellhemmenden Eigenschaften ( $\beta$ -Blocker, Ca-Antagonisten, Antiarrhythmika, Zytostatika, Immunsuppressiva, usw.). Diese Medikamente verlängern das Aktionspotential, d.h. die Wellenlänge ( $\lambda$ ), und vermindern damit die Frequenz (f). Die Energie, die eine Zelle umsetzt, ist jedoch proportional zur Frequenz,  $E = E_A \cdot f$ , da  $E_A$  konstant ist; d.h. diese Medikamente vermindern den Energieumsatz und damit die Energieleistung der Zellen. Sie hemmen die Energieumwandlung in den Zellen. Das Ergebnis ist: vielfältige Nebenwirkungen, herabgesetzte Funktionsfähigkeit (z.B. herabgesetzte Immunabwehr), erhöhte Mortalität und Krebs. Eine Reihe

großer anspruchsvoller, placebo-kontrollierter Doppelblind-Studien der letzten Jahre belegen diese Schlußfolgerung, welche sich zwangsläufig aus dem BP ergibt (CAST-Studie; Concorde-Studie; Cyclosporin bei Transplantationspatienten, Lancet, Vol 342, 1993, 1514-16; usw.). Andererseits gibt es keine einzige große placebo-kontrollierte Studie, die einen eindeutigen Vorteil einer chronischen Therapie mit zell-hemmenden Medikamenten bei den harten Prüfparametern Mortalität und Heilung nachweist.

Die verminderte Leistungsfähigkeit der Zellen durch eine medikamentöse Hemmung der Energieübertagung und die damit verbundene Toxizität und Mortalität ist leicht nachvollziehbar, das erhöhte Krebsrisiko jedoch nicht. Dennoch geht das erhöhte Krebsrisiko bei Zellhemmung auf dieselbe energetische Ursache zurück wie die erhöhte Mortalität und Toxizität. Eine Hemmung der physiologischen Periodizität der Aktionspotentiale führt zu einer Erhöhung der inneren Entropie, der Freiheitsgrade der Elemente im System. Wenn die innere Entropie wächst, nimmt auch die Fähigkeit des Systems zu, sich zu verändern. Dies führt zu vielfältigen Phänomenen in der Zelle. Man kann z.B. die Entropie der Zellen/Bakterien durch kurze hohe Temperaturschwankungen verändern und auf diese Weise die Mutationsrate erhöhen. Das gleiche Phänomen kann man beobachten, wenn zell-hemmende Medikamente chronisch eingesetzt werden. Das erhöhte Krebsrisiko (250 Medikamente der WHO-Liste mit nachgewiesener Karzinogenität haben dielektrische Eigenschaften, die sie als zell-hemmend ausweisen) ist ebenfalls energetisch zu erklären. Man kann eine Potentialschwankung, ein Aktionspotential, als eine Einhüllende (Welle) betrachten, die aus vielen kleineren Wellen zusammengesetzt ist (Fourier-Analyse). Physikalisch handelt es sich bei den vielen kleineren Schwankungen, die das Aktionspotential bilden, um elektromagnetische Wellen, die sich in der Zelle ausbreiten. Elektromagnetische Wellen breiten sich immer aus. Das Zytoplasma als ionische Lösung ist ein optimales Medium für ihre Ausbreitung. Die Ausbreitung elektromagnetischer Wellen in der Zelle ist bereits vor längerer Zeit theoretisch ausgearbeitet worden (Fröhlich, H., Coherent Excitation in Active Biological Systems, in Modern Bioelectrochemistry, 1986,

Plenum Press, New York, 241-262). Die Existenz kohärenter elektromagnetischer Wellen in den Zellen ist eine Tatsache und wird in der SQUID-Methode (Superconducting Quantum Interference Device) in der biomagnetischen Hirnforschung ausgenutzt. Die Wellen bilden Interferenzmuster, z.B. im Zellkern (die Zellkernporen mit einem Durchmesser zwischen 50 bis 100 Angström wirken wie Gitter), und rufen lokale Energiemaxima hervor. Wenn  $F_E$  während einer Depolarisation kleiner wird, nehmen die lokalen Maxima an den biochemischen Strukturen zu - so wie die Geschwindigkeit der chemischen Reaktionen (Energieerhaltungssatz).

Die theoretischen Grundlagen, wie solche Maxima auf der Quantenebene entstehen, sind bereits ausgearbeitet worden. So können z. B. Solitone, stehende Wellen, in der DNA (Muto v et al. Solitons in DNA, J Biomol. Structure & Dynamics, Vol 5, 1988, 873-94) und in anderen Strukturen (Davydov AS, Excitons and Solitons in molecular systems, Int Rev Cytology, Vol 1987, 183-225, Bednar J, Electronic excitations in condensed biological matter, Int J Radiat Biol, Vol 48, 1985, 147-66) durch Elektronentransfer innerhalb der supramolekularen Biostrukturen entstehen, die dann kinematisch oder durch Konfigurationsänderungen die Bioprozesse steuern. Bei der DNA handelt es sich um ein- oder mehrgipflige Solitone, welche die Fähigkeit besitzen, sich entlang den DNA-Strängen zu bewegen, ohne zu dispergieren, und damit den Transkriptionsvorgang zu steuern. Erste experimentelle Resultate belegen, daß der DNA-Strang leitfähig für Elektronen ist und damit die energetischen Voraussetzungen erfüllt, Solitone zu bilden (Murphy CJ et al, Long-range photoinduced electron transfer through a DNA-helix, Science, Vol 262, 1993, 1023-29). Eine Hemmung der Energieumwandlung der gespeicherten elektrischen Energie der Membranpotentiale durch zellhemmende Medikamente beeinträchtigt die Bildung von DNA-Solitonen über die elektromagnetischen Wellenausbreitung in delokalisierte Weise. Damit wächst die Wahrscheinlichkeit (die Freiheitsgrade/die Entropie) falsche Nukleotide während des Transkriptionsvorgangs einzubauen. Dies ist der energetische Mechanismus aller Mutationen. Die Zelle benötigt eine gewisse Pla-

stizität, um sich unter ungünstigen Bedingungen zu verändern. Dieser Mechanismus wird in den Stammzellen im Konchenmark physiologisch ausgenutzt, um spezifische Lymphozyten zu produzieren (colony-stimulating factors). Eine Mutation kann im energetischen Sinne positiv oder negativ sein. Die Transformation einer Zelle zu Krebszelle wird durch Mutationen ausgelöst, die unter dem Zwang ungünstiger energetischer Bedingungen vermehrt auftreten. Solche Mutationen wirken sich stets energetisch vorteilhaft für die Zelle aus (Überproduktion von Wachstumsfaktoren oder die Umwandlung von Protoonkogenen durch Punktmutationen in Onkogenen). Das BP liefert hier bemerkenswerte Einblicke (siehe Soliton-Triplets in Punkt V). 8. Postulat: Jede Ebene bleibt selbst-organisiert, solange sie in der Lage ist, ihre long-range Korrelation aufrechtzuerhalten, d.h. solange sie ungestört Energie mit den benachbarten Ebenen austauscht und Schwankungen produziert. Eine dauerhafte Zellhemmung führt stets zur Zellyse. Eine dauerhafte Überdepolarisation oder Überrepolarisation löst Apoptosis (programmierten Zelltod) aus, weil die Energieumwandlung und damit das regelmäßige Auf und Ab der LRK nicht stattfinden kann. Die Zellregeneration im Organismus und die gesamte Immunregulation (z.B. die MHC-eingeschränkte-T-Zell Selektion im Thymus) basiert auf der Apoptosis. Sie ist ein physiologischer Vorgang. Die bioenergetische Ursache der Apoptosis konnte mit der Formulierung des BPs gelöst werden.

#### V. Die Funktionsweise der Membranproteine im Sinne des BP

In obiger Diskussion wurde die gesamte Zelle bioenergetisch betrachtet und dabei die Membranen als Kondensatoren aufgefaßt. In Wirklichkeit sind die Membranen komplexe Strukturen. Sie bestehen aus unterschiedlichen Lipiden und Membranproteinen (integralen Proteinen). Etwa 50% des Membrangewichts entfällt auf die Membranproteine. Das BP liefert eine plausible Erklärung für deren energetische Funktion.

Es gibt grundsätzlich drei große funktionelle Gruppen der Membranproteine: die Rezeptoren, die Ionen-Kanäle und die Io-

nen-Pumpen (ATP-asen). Ihre Orientierung in der Membran ist fest vorgegeben und steht in einem direkten funktionalen Zusammenhang mit der Spannungsrichtung des Membranpotentials: eine ATP-ase z.B. wird zur ATP-Synthase, sobald das Membranpotential seine Richtung wechselt. Die meisten Rezeptoren haben ihr COO<sup>-</sup>-Ende im Zytoplasma und das NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-Ende im extrazellulären Raum (z.B. die Rezeptoren vom seven-loop-Typ). Die Rezeptoren ändern nie ihre Ausrichtung (kein flip-flop). Die Ionenkanäle weisen mit ihren beiden Enden entweder ins Zytoplasma (Na<sup>+</sup>-Kanäle) oder in den extrazellulären Raum (GABA-Rezeptor - es handelt sich in Wirklichkeit um ein Cl<sup>-</sup>-Kanal). Die Ionen-Pumpen sind aus mehreren Polypeptid-Ketten zusammengesetzt und deren COO<sup>-</sup> und NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-Endungen befinden sich sowohl im Zytoplasma als auch im extrazellulären Raum. Die zielgerichtete Orientierung der Membranproteine steht in einem funktionalen Zusammenhang mit der Spannungsrichtung der Membranpotentiale. Dies ergibt sich vor allem aus der Tatsache, daß sie den Ionentransport (Ladungstransport) durch die Membrane entweder direkt (Kanäle und Pumpen) oder indirekt (Rezeptoren) bewerkstelligen. Wenn die Rezeptoren aktiviert werden, kommt es zu diskreten Modulationen des Plasmapotentials, die wiederum spannungsabhängige Kanäle öffnen. Zusammenfassend ist festzustellen: a) alle biologischen Membranen verfügen über zahlreiche integrale Proteine; b) alle Membranproteine verändern die Membranpotentiale durch De- oder Repolarisation und beteiligen sich auf diese Weise an der Entstehung eines Aktionspotentials. Die Membranproteine sind für die Umwandlung der elektrischen Energie der Membranpotentiale in chemische Energie in der Zelle zuständig. Die Zellregulation von außen erfolgt also über die Membranproteine, d.h. über die LRK. Die anderen, zytoplasmatischen Eiweiße der Zelle, welche enzymatische und regulatorische Aufgaben erfüllen, werden über die LRK einheitlich gesteuert. Sie stellen die Strukturenergie bereit (ATP, neue Membranproteine, etc.), welche den Aufbau der elektrischen Energie der Plasmapotentiale ermöglicht.

35       Ausgehend vom BP konnte festgestellt werden, daß bestimmte Proteinstrukturen eine wichtige Rolle für die Ladungsübertra-

gung sowohl bei den Membranproteinen, als auch bei den Enzymen spielen. Es gibt zwei Grundstrukturen der Proteine, welche deren Tertiär- und Quartär- (dreidimensionale) Struktur maßgeblich bestimmen: die  $\alpha$ -Helix und das  $\beta$ -pleated sheet ( $\beta$ -Faltblatt). Alle integralen Eiweiße bestehen aus einem transmembranen Teil und aus Schleifen, die sich außerhalb der Membran - zytoplasmatisch oder extrazellulär - befinden. Der transmembrane Teil der integralen Proteine wird einheitlich als  $\alpha$ -Helix gebildet. Ein Membranprotein weist in der Regel mehrere  $\alpha$ -Helices auf. Jede  $\alpha$ -Helix hat einen ganz bestimmten Aufbau - die eine Seite der Windungen (ca.  $180^\circ$ ) wird aus lipophilen Aminosäuren gebildet, während die andere Seite aus hydrophilen Aminosäuren gebildet wird. Die  $\alpha$ -Helices orientieren sich mit ihren lipophilen Seiten nach dem Prinzip der Selbstorganisation zu den Phospholipiden der Lipid-Doppelschicht hin und mit den hydrophilen Seiten zueinander. Sie bilden auf diese Weise hydrophile Kanäle in der Membran. Diese sind im inaktiven Zustand für Ionen geschlossen.

Die Iontentransporte durch die Membran, welche die De- oder Repolarisation der Zelle bewirken und letztendlich für die Umwandlung der elektrischen Energie zuständig sind, verlaufen ausschließlich entlang der Membranproteine. Alle bisherigen Modelle, etwa für Ionenkanäle oder für  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP-ase (z.B. das Jardetzky-Modell) berücksichtigen nur die Proteinstrukturen und übersehen die Bedeutung des Plasmapotentials und der Energieumwandlung für die Zellregulation. Ausgehend vom BP wird ein neues Modell vorgeschlagen, das sowohl theoretisch begründbar als auch experimentell belegbar ist. Dennoch muß man davon ausgehen, daß die Vorgänge auf der Quantenebene weitaus komplexer sind, als die von uns beschriebenen. Aus energetischer und bilanztechnischer Sicht reicht jedoch diese Beschreibung völlig aus, um die Regulation der Zelle und des Organismus adäquat darzustellen und damit die experimentellen Ergebnisse der modernen Bioforschung logisch und zusammenhängend zu erklären.

Es konnte festgestellt werden, daß bestimmte Aminosäuren für die Ladungsübertragung entlang den supramolekularen Struk-

turen der Proteine eine wichtige Rolle spielen. Unter den 20 Aminosäuren gibt es zwei positiv geladene Aminosäuren (+Aminosäuren) - Arg und Lys -, zwei negativ geladene Aminosäuren (-Aminosäuren) - Asp und Glu - und drei  $\pi$ -Elektron tragende Aminosäuren ( $\pi$ -Aminosäuren) - die essentiellen, aromatischen Aminosäuren, Phe, Tyr und Trp. In  $\alpha$ -Helices bilden jeweils eine +Aminosäure, eine -Aminosäure und eine  $\pi$ -Aminosäure einen funktionalen Dipol. Diese funktionale Einheit wird als das "Soliton-Triplet" bezeichnet. Die Analyse der Aminosäuresequenzen vieler Proteine, deren Struktur in den letzten Jahren aufgeklärt wurde, zeigt, daß sich jeweils drei Aminosäuren eines Soliton-Triplets in räumlicher Nähe befinden. Eine  $\pi$ -Aminosäure wird von einer -Aminosäure und einer +Aminosäure flankiert. Dies findet man vor allem in  $\alpha$ -Helices aber auch in  $\beta$ -Faltblattstrukturen. Soliton-Triplets sind von lipophilen Aminosäuren umgeben, welche ein lipophiles Milieu um diese funktionellen Einheiten bilden, um sie vor dem ionischen Milieu des Zytoplasmas oder der extrazellulären Flüssigkeit abzuschirmen. In Enzymen und Membranproteinen, die alternierend aus  $\alpha$ -Helices und  $\beta$ -pleated sheets bestehen, findet man solche Soliton-Triplets an den funktionellen Zentren, z.B. in Tyr-Kinasen, in den peptid-bindenden Taschen von MHC-Klasse I und II-Proteinen (L.J. Stern, Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with influenza virus peptide, Nature, 368, 1994, 215-221), in Hämoglobin (L. Stryer, Biochemistry, W.H. Freeman & Company, 1988) etc. Diese hydrophoben (lipophilen) Zentren stehen nach außen hin durch hydrophile Aminosäuren mit der Umgebung in Verbindung. Damit kommt allen 20 Aminosäuren, die sich am Aufbau der Proteine beteiligen, eine funktionelle Bedeutung zu. Die AS-Sequenzen, die man in den Proteinen beobachtet, spiegeln die Nukleotid-Sequenzen der Gene wider. Man kann sie nun energetisch und funktionell lesen. Der genetische Code ist somit nicht das à priori Ereignis, das alles in der Zelle bestimmt, wie man zur Zeit allgemein glaubt, sondern eine Strukturkomplexität, die sich aus dem Evolutionsgesetz (9. Postulat) ergibt und dem energetischen Zwang der LRK unterliegt. Die Organisation bzw. die Umwandlung der Energie in der

Zelle ist nach dem BP das primäre Ereignis.

Die Soliton-Triplets sind für die Ladungsübertragung zuständig. Ein Protein besitzt mehrere Soliton-Triplets. Man kann sie als molekulare Drähte betrachten, die in der Membranspannung als Halbleiter fungieren. Die +Aminosäuren und die -Aminosäuren fungieren, je nach Spannungsausrichtung, als Elektron-Donor oder als Elektron-Akzeptor. Die  $\pi$ -Aminosäure ist die elektronenleitende Struktur zwischen den beiden. Unzählige Daten der supramolekularen Chemie bestätigen die elektrischen Eigenschaften solcher biologischer Molekulardrähte (z.B. M. Wassielewski, Photoinduced electron transfer in supramolecular systems for artificial photosynthesis, Chem Rev, 1992, 92, 435-461). Diese Eigenschaften können auch an biologischen Strukturen nachgewiesen werden - z.B. in Rhodopsin (U.B. Kaupp et al. Primary structure and functional expression from complementary DNA of the rod photoreceptor cyclic GMP-gated channel, Nature 342, 1989, 762-66) aber auch in DNA (siehe oben) und in anderen Strukturen (Myosin-Actin-Filamente, Zytoskelett, etc.). Genmutationen und insbesondere Punktmutationen, welche die Soliton-spezifischen Aminosäuren betreffen, gehen stets mit einer funktionalen Störung einher - die Energie- (Ladungs-)übertragung ist nämlich gestört. Solche erworbenen oder angeborenen Mutationen führen zu Krankheiten. Die Krankheitsentstehung kann somit auf energetischer Ebene erklärt werden.

Anhand der Soliton-Triplets kann erklärt werden, wie die Ionenkanäle und die ATP-asen funktionieren. Der Elektron-Donor eines Soliton-Triplets, das sich in der  $\alpha$ -Helix eines Membranproteins befindet, kann aufgrund von Spannungsänderungen ein Elektron abgeben. Im inaktiven Zustand sorgt die  $E_p$  als LRK dafür, daß der Freiheitsgrad der Elektronen eingeschränkt bleibt. Die Abgabe eines Elektrons kann also nur durch Potentialschwankungen ausgelöst werden. Dieses Elektron wird vorübergehend von der  $\pi$ -Aminosäure aufgenommen. Die  $\pi$ -Elektronen halten sich aufgrund ihres energetischen Niveaus in der gesamten  $\pi$ -Struktur auf. Ein solche Struktur kann leicht zusätzliche Elektronen aufnehmen. Das ungepaarte überschüssige Elektron

nimmt vorzugsweise lokalisierte, energetisch-vorteilhafte Positionen ein, die sogenannten "midgaps" im  $\pi$ -System. Diese "midgaps" erhalten eine negative Ladung - die Ladung eines Elektrons. Die "midgaps" können sich entlang der  $\pi$ -Elektronenstruktur bewegen. Auf diese Weise werden sie auf den Elektronen-Akzeptor übertragen. In diesem Fall erhalten die "midgaps" eine positive Ladung - die Ladung eines Protons. Die positiven "midgaps" bewegen sich in die entgegengesetzte Richtung. Sie können ebenfalls auf andere Strukturen übertragen werden (Karplus M & Porter RN, Atoms & molecules, 1970, Benjamin/Cumming Publishing House, 1970). Dasselbe Phänomen beobachtet man bei Festkörper-Halbleitern (siehe auch die Quantentheorie der elektrischen Leitung, Fermi-Dirac-Verteilungsfunktion, etc.). Auf diese Weise werden Protonen durch biologische Membranen transportiert (z.B. in den Protonen-Pumpen der Atmungskette). Die Übertragung eines einzigen Elektrons entlang eines Membranproteins, z.B. entlang des transmembranen Teils, bewirkt eine globale Konfigurationsänderung der gesamten Eiweißstruktur. Es entstehen stehende Wellen, sogenannte Solitone, welche nicht dispergieren und sich entlang den Strukturen fortpflanzen können. Die Entstehung von Solitonen (auch Excitone genannt) in Membranproteinen wurde theoretisch zuerst von Davydov untermauert (siehe oben). Die mathematische Theorie der Solitone war vorher von anderen Physikern ausgearbeitet worden (Zakharov und Fadeev 1971, Zakharov und Shabat 1974, Cologero und Degasperis 1976, Bullough und Caudrey 1980 usw.) und geht auf die Erforschung nicht-linearer Systeme zurück (zuerst von Fermi, Pasta und Ulam in Los Alamos, 1955). Wichtig für vorliegende Erörterung ist die Feststellung, daß der Transfer eines einzigen Elektrons an einem Ende des Membranproteins genügt, um seine gesamte Konfiguration zu ändern. Solche Konfigurationsänderungen kann man z.B. sehr gut beim Rhodopsin nach der Aufnahme eines Photons durch Retinal beobachten (L. Stryer, Cyclic GMP Cascade of vision, Ann Rev Neurosci., 1986, 9, 87-119). Kürzlich beobachtete man globale Konfigurationsänderungen bei Fullerenen vom  $C_{60}$ -Typ und bei anderen "Käfig-Verbindungen", bei denen mit Hilfe eines Lasers ein einziges Elektron in einen höheren Energiezustand

angeregt wurde (Vortrag der Gruppe M Bennati et al., Universität Stuttgart auf der Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft in Berlin, März 1995)

Solitone verändern vorübergehend die Struktur der Ionenkanäle und der ATP-asen und öffnen auf diese Weise die hydrophilen Kanäle, die sie in der Membran bilden. Der Elektronentransfer, den man in den Integralproteinen beobachten kann, führt durch Konfigurationsänderungen zu Ionenströmen entlang dem Ionengradienten (Ionen-Kanäle) oder gegen den Ionengradienten (ATP-asen). Im inaktiven Zustand befinden sich die Proteine und damit ihre Soliton-Triplets in einem Konfigurationszustand, bei dem eine Elektronenübertragung durch die  $\pi$ -Elektronenstruktur nicht möglich ist - in diesem Zustand wird ein verbotenes Energieband, Leitungsband, gebildet, welches erst durch eine Aktivierung, z.B. Rezeptoraktivierung von außen oder durch eine Potentialänderung aufgehoben werden kann.

Nach dem selben Prinzip arbeiten auch die Rezeptoren, allerdings leiten sie keine Ionenströme durch die Membran, sondern nur Elektronen. Sie lösen diskrete Potentialschwankungen aus, welche die spannungsabhängigen Kanäle öffnen können. Damit erfüllen alle Membranproteine die Funktion eines Halbleiters. Sie leiten elektrische Ströme durch die Membran in eine ganz bestimmte Richtung und beeinflussen auf diese Weise die LRK der Zelle. Ihre Halbleitereigenschaften hängen von der Höhe und der Ausrichtung der Membranspannung ab. Dies erklärt auch, warum sie eine spezifische Orientierung haben müssen, und warum sich eine ATP-ase zu einer ATP-Synthase umwandelt, sobald sich die Spannungsrichtung des Membranpotentials umkehrt. Alle Membranproteine und alle anderen Zellproteine sind funktionelle Einheiten, die auf demselben Wirkungsprinzip aufbauen - sie stellen nur Variationen dieses Prinzips dar und sind universal einsetzbar. Rekonstitutionsversuche zeigen, daß Membranproteine, die aus unterschiedlichen Species stammen - etwa eine Rinder -ATP-ase und das Bakteriorhodopsin eines Archaeobacteriums, das als Protonenpumpe funktioniert, - über das Membranpotential miteinander gekoppelt werden können und einwandfrei arbeiten, obwohl

sie sich noch nie vorher begegnet sind. (Racker, E., Reconstitutions of transporters, receptors and pathological states, Academic Press, 1985).

Die Aktivierung von Membranproteinen geht in der Regel mit einer Endocytose einher. Die meisten Rezeptoren werden z.B. nach Aktivierung in die Zelle aufgenommen und werden entweder abgebaut oder erscheinen nach einer bestimmten Zeit erneut an der Zelloberfläche. Zu jedem Zeitpunkt weist also die Zelle unterschiedliche Anfangsbedingungen auf, die ihr Verhalten auf externe Einflüsse maßgeblich und stets global bestimmen. Ob eine Zelle depolarisiert oder repolarisiert wird und in welchem Umfang dies geschieht, hängt nicht nur von dem Summenprodukt aller physiologischen Faktoren der suprazellulären Regulation ab, welche mit der Zelle wechselwirken, sondern auch vom Anfangszustand der Zelle. Wir werden nun einige wichtige Ergebnisse zusammenfassen, die eine Erklärung erst durch das BP finden.

Werden die Zellen verstärkt depolarisiert, etwa durch mehr depolarisierende Substanzen, dann nimmt ihr Metabolismus insgesamt zu. Sie wachsen, produzieren mehr Eiweiße und teilen sich verstärkt. Es kommt zu einer verstärkten Endocytose der Membranproteine. Depolarisierende Substanzen sind zellstimulierend. Sie erhöhen den Energieumsatz der Zellen, indem sie vorwiegend die Frequenz der Potentialschwankungen nach der universalen Gleichung des BPs,  $E = E_A \cdot f$  erhöhen. Repolarisierende Substanzen erhöhen die Schwelle der Zellaktivierung und drosseln den Energieumsatz der Zellen über eine Senkung der  $E_A$ -Frequenz. Eine verstärkte Stimulation durch repolarisierende Substanzen führt zur Zellreifung, Zelldifferenzierung und verstärkter Expression von Membranproteinen. Beide Formen der Zellregulation laufen gleichzeitig ab und sind unentbehrlich für die biologische Regulation. Ob eine Zelle vorwiegend depolarisiert oder repolarisiert wird, hängt nicht zuletzt von ihren Anfangsbedingungen ab - etwa von der Zusammensetzung der Plasmamembranproteine. In der physiologischen Regulation überwiegen die depolarisierenden Faktoren bei weitem - es gibt etwa 20 depolarisierende Interferone aber nur ein repolarisierendes.

Die meisten peripheren Neurotransmitter, welche die Muskulatur aktivieren und die primären neuronalen Reize hervorrufen, wirken depolarisierend. Repolarisierende Neurotransmitter überwiegen im ZNS und haben die Aufgabe die primäre Erregungsleitung durch Repolarisation an den Synapsen zu modulieren. Zuerst erfolgt Depolarisation und dann Repolarisation. Übermäßige und langanhaltende Depolarisation führt durch eine Dissipation der LRK zur Apoptosis (zum programmierten Zelltod, auch Zellyse genannt). Eine übermäßige und langanhaltende Repolarisation führt zur Anergie der Zellen (der Energieumsatz nimmt stark ab und zum Zelltod (= Apoptosis). Die energetische Ursache der Apoptosis konnte erst mit der Ableitung des BPs geklärt werden. Die Apoptosis ist ein physiologischer Prozess. Die Regeneration der Zellen und des Organismus, welche für die Gesundheit unerlässlich ist, erfolgt durch Apoptosis. Die Regulation des Immunsystems - die Bildung von Selbsttoleranz und Alloreaktivität - beruht ebenfalls auf der Apoptosis. Diese Erkenntnis ist wichtig für das Verständnis der Wirkungsweise von Nys bei vielen immunologischen Krankheiten.

VI. Die Funktionsweise von Polyen-Makroliden entspricht der Funktionsweise von Membranproteinen

Die Wirkungsweise von Polyen-Makroliden kann erst dann richtig verstanden werden, wenn man die Funktionsweise der Membranproteine kennt und die Zellregulation in Sinne des BPs berücksichtigt. Daraus folgt, daß alle bisherigen Erklärungsversuche in dieser Hinsicht die tatsächliche Wirkung der Polyen-Makrolide mißverstanden haben und sein therapeutisches Potential nicht erkannt wurde. Anhand der Modellverbindung Nys wird die Funktionsweise der erfindungsgemäß verwendbaren Polyen-Makrolide in den folgenden Abschnitten genauer erläutert. Die folgenden Ausführungen gelten analog für Amp.

1. Die Struktur von Nystatin

Nys besteht, wie alle Polyene, aus zwei unterschiedlichen chemischen Strukturen, nämlich aus einem Makrolidring und aus einem Aminozyucker. Der Aminozyucker, ein Mycosamin (3-amino-3,6-

dideoxy-D-Mannose) ist glykosidisch an den Makrolidring gebunden. Der Makrolidring besteht aus Kohlenstoffatomen und ist geschlossen durch Bildung eines internen Esters oder durch ein Lakton. Der Makrolidring stellt eine stabile stabförmige Struktur dar. Er weist eine hydrophobe Seite auf, die durch die Polyen-  
5 kette ( $\pi$ -Elektronen tragende Struktur) gebildet wird, und eine entgegengesetzte hydrophile Seite, die durch Hydroxylgruppen gebildet wird. Die konjugierten Doppelbindungen der Polyen-  
10 kette befinden sich in trans-Position. Der Zuckerrest ist an einem Ende des Makrolidrings gebunden und trägt eine primäre Aminogruppe. Am selben Ende des Makrolidrings befindet sich auch eine Carboxylgruppe. Eine einzige stark polarisierte Hydroxylgruppe befindet sich am anderen Ende des Makrolidrings und verleiht diesem Teil von Nys hydrophile Eigenschaften. Der  
15 amphiphile Charakter von Nys wird von der Gesamtheit dieser Gruppen bestimmt. Sie sind für die Orientierung des Moleküls in biologischen Membranen verantwortlich. Alles deutet darauf hin, daß sich der Zuckerrest und die Carboxylgruppe auf der extrazellulären Seite der Membran befinden, während die stark polarisierte Hydroxylgruppe auf der zytoplasmatischen Seite liegt,  
20 obwohl flip-flop-Phänomene nicht ganz ausgeschlossen sind. Die Orientierung von Nys in der Membran entspricht somit derjenigen eines Integralproteins. Alle Membranproteine sind Glykoproteine und ihr glykosidierter Teil befindet sich stets auf der extrazellulären Seite. Diese fixe Orientierung der Membranproteine  
25 steht im Zusammenhang mit ihrer spezifischen Funktion.

Im bioenergetischen Sinne weist die Struktur von Nys alle funktionellen Gruppen auf, die man auch bei den Membranproteinen findet und ihre Funktionsweise als Halbleiter, bzw. Energieüberträger bestimmen. Der lange Makrolidring entspricht dem  
30 transmembranen Teil eines Integralproteins. Wie bei der  $\alpha$ -Helix, besitzt er eine hydrophile Seite und eine lipophile Seite, die aus einer langen  $\pi$ -Elektronenkette besteht. Der amphipathische Charakter von Nys bestimmt seine Selbst-Organisation in  
35 der Lipid-Doppelschicht. Der Makrolidring durchdringt die Membran. Er hat eine Länge von etwa 22-25 Angström und ist etwa so

lang wie die  $\alpha$ -Helix eines Membranproteins. Der Zuckerrest bestimmt seine Orientierung. Nys weist zwei geladene Gruppen auf, eine positiv geladene (die  $\text{NH}_3^+$ -Gruppe am Zuckerrest) und eine negativ geladene (die  $\text{COO}^-$ -Gruppe am Makrolidring), die sich in räumlicher Nähe zur  $\pi$ -Elektronenkette befinden. Sie funktionieren als Elektron-Donor und Elektron-Akzeptor, je nach Spannungsrichtung. Nys besitzt somit ein Soliton-Triplet, ebenso wie die Membranproteine. Es verhält sich wie ein Halbleiter im Membranpotential und ermöglicht den Ionentransport durch die Membran. Nys ist bekanntlich ein Ionophor. Der Dipol-Charakter von Nys wird von der stark polaren Hydroxylgruppe am anderen Ende des Makrolidrings, den  $\pi$ -Elektronen der Polyenkette und den positiv und negativ-geladenen Gruppen bestimmt. Legt man nur die Ladung der  $\pi$ -Elektronen zugrunde, die sich in der Polyenkette frei bewegen können und in der Membranspannung eine Polarisierung erfahren können, dann kann man die Dipolenergie von Nys in etwa abschätzen:

$$E_D = q \cdot l \cdot F_p \approx 10^{-19} \text{ J}$$

( $q = n \cdot e$ , Anzahl der  $\pi$ -Elektronen,  $n=12$  für Nys,  $n=14$  für Amp;  $l = 22 \cdot 10^{-10} \text{ m}$  Länge der  $\pi$ -Elektronenkette,  $F_p = 4,5 \cdot 10^7 \text{ Vm}^{-1}$ , elektrische Kraft des Plasmopotentials,  $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Coulomb}$ ). Die Dipol-Energie eines Nys-Moleküls ist um den Faktor  $10^5$  kleiner als die Energie des Plasmagradients  $E = 10^{-14} \text{ J}$ . Der Energieumtausch zwischen den Ebenen der Selbst-Organisation erfolgt in Energiepaketen, Energiequanten, mit fixen Energiebeträgen. Eine Nys-Molekül hat unter den gegebenen Bedingungen ( $F_p$ ) einen ganz bestimmten Energiewert. Die Energiewerte solcher Pakete weisen eine statistische Verteilung um den häufigsten Energiewert auf. Die Dipol-Energien der meisten zellstimulierenden Substanzen bewegen sich im Bereich von  $10^{-19} \text{ J}$ . Die Energie eines Elektrons in  $V_p$  ist  $0,19 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ .

Konventionellerweise nimmt man an, daß Nys an Cholesterin bzw. an Ergosterol bindet, wobei die Affinität zum letzteren ausgeprägter ist. Daraus wird zur Zeit auch eine "spezifische"

antimykotische Wirkung abgeleitet. Dies ist ein klassisches Beispiel einer reduktionistisch-deterministischen, und d.h. mechanistischen Erklärung. Zunächst besteht jede biologische Membran aus Strukturlipiden, Phospholipiden. Befinden sich die Phospholipide in einer ionischen Lösung, organisieren sie sich aufgrund ihrer amphipathischen Eigenschaften sofort zu einer Doppelschicht. Das gleiche gilt für Cholesterol oder verwandte chemische Substanzen, wie die Steroid-Hormone, aber auch für das Ergosterol der Pilzmembranen. Dieses Phänomen beobachtet man auch bei allen Membranproteinen. Sobald sie in Kontakt mit einer Lipid-Doppelschicht kommen, organisieren sie sich selbst, indem sie  $\alpha$ -Helices und Schleifen bilden. Alle Konstituenten biologischer Membranen organisieren sich selbst. Nys organisiert sich ebenfalls selbst in der Membran. Wegen seiner amphipathischen Eigenschaften weist es eine ausgeprägte Affinität zu biologischen Membranen auf und bindet spontan. Alle diese Formen der Selbst-Organisation werden energetisch gesteuert. In biologischen Membranen findet man Cholesterol in einem molaren Verhältnis zu den Phospholipiden von etwa 1:1. Seine Konzentration kann jedoch stark variieren - insbesondere bei intrazellulären Membranen. Angesichts der engen räumlichen Verhältnisse in der Membran muß Nys notwendigerweise mit Cholesterol in Kontakt treten. Es tritt aber ebenso gut in Kontakt mit allen anderen Membranlipiden und Proteinstrukturen. Die Wirkung von Nys auf eine einzelne Interaktion mit einem einzigen Element der Membran zurückzuführen, ist ein fundamentaler Irrtum (siehe de Kruiff's Modell in Polyene antibiotic-sterol interactions in membranes of *Acholeplasma laidlawii* cells and lecithin liposomes, *Biochimica & Biophysica Acta* 339, 1974, 57-70). Daraus folgt, daß die bisherige Erklärung der antimykotischen Wirkung von Nys nicht stimmt. Aufgrund seiner spezifischen Molekülstruktur kann man Nys als einen universalen, nicht-eiweißhaltigen Ionenkanal bezeichnen. Dies erklärt seine ubiquitären ionophoren Eigenschaften (siehe Punkt 2 unten). In dieser Eigenschaft beeinflußt es an erster Stelle das Plasmapotential der Zellen und tritt auf diese Weise in globaler energetischer Wechselbeziehung mit allen Membran- und Zellkonstituenten. Dar-

über hinaus kann es zu direkten Bindungen mit Cholesterin kommen.

Die energetische Wechselwirkung zwischen Nys und Cholesterin ist sehr wichtig für seine therapeutischen Effekte, z.B. bei der Arteriosklerose. Cholesterin ist entscheidend für die Energieumwandlung an biologischen Membranen. Seine Funktion konnte im Sinne des BPs neu definiert werden. Das Cholesterin-Molekül hat nach dem Dipol-Modell so gut wie keinen Dipol-Charakter. Seine dielektrischen Eigenschaften zeichnen es als einen starken biologischen Isolator aus. Cholesterin bestimmt somit die isolatorischen Eigenschaften der biologischen Membranen und nicht nur ihren fluiden Charakter. Angesichts der extrem hohen  $F_E$  von  $10^7 \text{ Vm}^{-1}$ , müssen die biologischen Membranen starke Isolatoren sein. Ausgehend von dieser Erkenntnis, kann man die Wirkung aller Steroid-Hormone, etwa der Sexualhormone und der Glukokortikoide, erklären. Sie werden aus Cholesterin gebildet und haben im Vergleich zu Cholesterin einen stärkeren Dipol-Charakter - der aliphathische Rest von Cholesterin ist durch polare Gruppen ersetzt. Sobald sich polare Cholesterin-Derivate in geringen Mengen mit Cholesterol in der Membran vermischen, erhöhen sie geringfügig ihre Leitfähigkeit. In physiologischen Konzentration wirken die Sexualhormone aus diesem Grund zell-stimulierend und fördern das Zellwachstum - z.B. in der embryonalen Entwicklung und in der Pubertät. Werden sie jedoch in wesentlich höheren Konzentrationen verabreicht, wie bei einer Therapie mit Glykokortikoiden, erhöhen sie übermäßig die Leitfähigkeit der biologischen Membranen. Die ursprüngliche Höhe der Membranpotentiale  $V$  und damit der gespeicherten elektrischen Energie  $E$  kann wegen der ungünstigen dielektrischen Eigenschaften der Membranen -  $V$  und  $E_{el}$  verhalten sich umgekehrt proportional zur dielektrischen Konstante  $\epsilon$  der Membran - nicht mehr aufrechterhalten werden. Damit sinkt auch der Energieumsatz der Zelle. In höheren Konzentrationen wirken alle Glukokortikoide deswegen zell-hemmend und vor allem immunhemmend. Damit kann auch die Ätiologie der Arteriosklerose/Atheromathose energetisch geklärt werden (siehe unten).

## 2. Pharmakologie und Kinetik von Nys im Sinne des BPs

Anhand der Nys-Struktur können alle bekannten pharmakologischen Effekte dieses und der anderen erfindungsgemäß verwendbaren Polyen-Makrolide im Sinne des BPs logisch und zusammenhängend erklärt werden. Darüberhinaus kann man alle neuen therapeutischen Effekte, die Gegenstand dieser Erfindung sind, begründen. Zunächst die bekannten: Nys ist, wie bereits erwähnt, ein Ionophor. Aus diesem Grund wird es ausgiebig in der patch-clamp-Technik verwendet. Man sagt, Nys erhöhe die Membranpermeabilität für Ionen. In biologischen Membranen beobachtet man vor allem eine erhöhte Permeabilität für  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionen. In Zellkulturen kommt es zu einem  $\text{Na}^+$ -Einwärtsstrom und zu einem  $\text{K}^+$ -Auswärtsstrom entlang den Ionengradienten. Nys führt zur Depolarisation bei allen bisher untersuchten Zellarten.

Darüberhinaus verändert es die Membranpermeabilität für andere Ionen. Nys erhöht z.B. die intrazelluläre Konzentration von  $\text{Ca}^{2+}$  (Wiegand et al, Nystatin stimulates prostaglandin E synthesis and formation of diacylglycerol in human monocytes, Agents and Action, vol. 24, 3/4, 1988). In diesem Fall handelt es sich um eine Konsequenz der globalen Stimulation der Zellen durch Nys. Jede Zellstimulation geht mit einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration von Calcium einher. Aus diesem Grund wird Calcium irrtümlicherweise als "second-messenger" bezeichnet. Alle bisher untersuchten intrazellulären Systeme, die im Rahmen einer Zellaktivierung stimuliert werden und als Indikatoren für diese Zellstimulation aufzufassen sind - und nicht etwa als "second-messengers"- werden von Nys aktiviert. Nys, ebenso wie Amp, stimuliert die Produktion der Prostaglandine, die Phosphoinositol-Kaskade (Wiegand et al.), die Adenylatcyclase-Kaskade (Dipple I & MD Housley, Amphotericin B has very different effects on the glucagon- and fluoride-stimulated adenylat-cyclase activities of rat live plasma membranes, FEBS Letters, 106, 1979, 21-24), die DNA- und RNA-Synthese und den Substrat-Transport (Kitagawa, T. & Andoh, T., Stimulation by Amphotericin B of uridine transport, RNA synthesis and DNA-synthesis in density-inhibited fibroblasts, Experimental cell

research, 115, 1978, 37-46), etc. Die ubiquitären zellstimulierenden Eigenschaften von Nys und anderen Polyenen können bei allen Zellarten - Eukaryonten, Bakterien und Pilzen - beobachtet werden. Nys stimuliert alle Lymphozyten, die Killer-Aktivität der T-Zellen, die Makrophagen, die polymorphonuklearen Neutrophilen (PMN), das "oxydative burst" der Makrophagen, etc. Diese universelle zellstimulatorische Eigenschaft von Nys konnte erst mit Hilfe des BPs erklärt werden. Nys wirkt wie ein universeller, biologischer Ionenkanal und führt zur Zellstimulation durch Depolarisation. Diesen Effekt kann man bei allen Eukaryonten beobachten. Der energetische Mechanismus einer Zellstimulation durch Nys ergibt sich aus der universalen Gleichung des BPs:  $E = E_A \cdot f$  (siehe oben). Wie bei den physiologischen Membranproteinen, die für den Ionentransport durch die Membran verantwortlich sind, beobachtet man auch bei Nys einen offenen und einen geschlossenen Zustand im Rahmen seiner ionophoren Tätigkeit (Ermischkin L.N., et al., Single ionic channels induced in lipid bilayers by polyene antibiotics amphotericin B and nystatine, Nature, 262, 1976, 698-9). Daraus kann man schließen, daß auch bei Nys die selben Quanteneffekte, welche für die Entstehung von Solitonen verantwortlich sind, spezifische Konfigurationsänderungen der Nys-Struktur auslösen und damit die Öffnung der Nys-Kanäle dynamisch steuern.

Nys stimuliert die meisten Zellen in Konzentrationen zwischen 5 und 50 µg/ml ohne eine Zellyse auszulösen. In sehr hohen Konzentrationen führt Nys durch eine Überdepolarisation und Dissipation der LRK zur Zellysis (=Apoptosis). Eine Zellyse beobachtet man allerdings erst bei sehr hohen Konzentrationen von über 100 µg/ml. In diesem Fall muß die Inkubationszeit 24 Stunden und länger betragen. Die Zellyse nimmt mit der Inkubationszeit zu. Während einer kurzen Einwirkungszeit kommt es selten zur Zellyse. Die Zellen erholen sich rasch nach der Überstimulation. Ruhende Zelle sind weniger empfindlich für eine Überdepolarisation durch Nys als solche, die á priori maximal stimuliert sind. Auch dieses Phänomen läßt sich energetisch leicht erklären. Immunzellen sind ruhende Zellen und be-

dürfen eine maximale Stimulation, bis sie aktiviert werden. In der akuten Immunreaktion z.B. steigen die Konzentrationen der zellstimulierenden humoralen Faktoren, etwa der Lymphokine, bis auf das 10.000-fache im Körper an. Die Tubuluszellen der Nieren werden dagegen unter normalen Bedingungen maximal stimuliert. Die i.v. Gabe von Nys, Amp oder einem anderen Polyen-Makrolid, führt auch bei sehr niedrigen Konzentrationen rasch zu Nierentoxizität. Aus diesem Grund ist i.v. Nys nicht zugelassen. Demgegenüber steht die erfindungsgemäß überraschenderweise festgestellte, ausgezeichnete Verträglichkeit von Nys nach oraler Gabe sehr hoher Dosen (bis zu 5 g täglich) über längere Zeit.

Diese Diskrepanz im Sicherheitsprofil zwischen der oralen und der systemischen Gabe hat zu der falschen Schlußfolgerung geführt, daß orales Nys nicht resorbiert wird. Als Beweis werden die niedrigen Konzentrationen von Nystatin im Serum nach oraler Gabe herangeführt. Diese Feststellung ist nicht zulässig. Nys ist eine lipophile Substanz und hat eine sehr hohe Affinität sowohl für Cholesterin und seinen Derivaten, z.B. für die Gallensäuren mit denen es Micellen bildet, als auch für biologische Membranen. In der Gegenwart von Lipid-Membranen in ionischer Lösung ist das gesamte Nystatin membran-gebunden. Im Körper bindet das resorbierte Nys sofort an den Zellmembranen - befindet sich also in den tiefen Kompartimenten - und erscheint nicht im Plasma, das einer ionischen Lösung entspricht. Nach einer i.v. Gabe von Nys verschwindet die Substanz innerhalb von wenigen Minuten aus dem Plasma und verteilt sich in den tiefen Kompartimenten. Das gesamte Nys im Plasma ist an Lipoproteine gebunden. Es gibt allerdings keine Messung der Nys-Konzentrationen an den Membranen der Blutzellen.

Die Kinetik der Polyen-Makrolide ist sehr unzureichend untersucht worden. Es liegen nur Ergebnisse mit Amp vor, wobei auch bei diesem Polyen die Daten in hohem Maße unzureichend sind. Die Kenntnisse über die Kinetik von i.v. Amp basieren auf den Daten von nur 2 Patienten (A.J. Atkinson & J.E. Bennet, in Antimicrob. Agents & Chemoth (1978), Vol 13, p. 271-276). Diese Erfindung basiert dagegen, unter anderem, auf der überraschen-

den Feststellung, daß Polyene, wie Nys und Amp nach oraler und intranasaler Verabreichung weitgehend resorbiert werden und systemische therapeutische Effekte hervorrufen.

Erfindungsgemäß konnte festgestellt werden, daß orales Nys  
5 und Amp fast vollständig vom Magen-Darm Trakt resorbiert werden und sich vorwiegend in der Leber aber auch in anderen mesenchymalen und immunologischen Organen anreichern. Aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften bindet orales Nys offensichtlich an die Gallensäuren und wird von den Chylomikronen in die Leber  
10 und in andere mesenchymale Organen transportiert. Dieses kinetische Verhalten ist typisch für die meisten lipophilen Substanzen (Koch & Ritschel, Synopsis der Biopharmazie und Pharmakokinetik, Ecomed, 1986). Würde die gegenwärtige Vorstellung zutreffen, daß orales Nys nicht, oder nur sehr wenig resorbiert  
15 wird, dann müßte der Hauptanteil von Nys mit den Faeces ausgeschieden werden. Es gibt nämlich bisher keinen Hinweis, daß Nys im Magen-Darm-Trakt abgebaut wird. Wir konnten jedoch feststellen, daß der Anteil des mit den Faeces täglich ausgeschiedenen Nys weniger als 1% der oral eingenommenen Tagesdosis beträgt.  
20 Da ein Abbau im Magen-Darm-Trakt ausgeschlossen werden muß, bleibt als einzige Möglichkeit, daß Nys vom Magen-Darm-Trakt weitgehend resorbiert wird.

Die Resorption von Nys und Amp konnte zuerst anhand der therapeutischen Effekte festgestellt werden. Da die Bioverfügbarkeit lipophiler Medikamente anhand der Serumkonzentrationen  
25 nicht erfaßt werden kann, empfiehlt sich die Erfassung von systemischen pharmakodynamischen Effekten z.B nach Challenge und Dechallenge. Eine weitere Möglichkeit stellt die Erfassung der Stärke der Effekte im Verhältnis zur Höhe der verabreichten  
30 Dosis (Dosis-Wirkung Relation) dar. Es wurde eine Reihe von Challenge-Dechallenge-Versuchen und Versuchen mit ansteigender Dosierung an Patienten mit unterschiedlichen Krankheiten, welche auf Nys und /oder Amp ansprechen, durchgeführt. Die mittlere Tagesdosis von Nys betrug bei den Challenge-Dechallenge-  
35 Versuchen 1-1,5 g. Bei den Versuchen mit ansteigender Dosierung wurde eine Tagesdosis zwischen 250 mg und 2 g eingesetzt. Nys

und Amp wurden als Pulver, in Gelatinkapseln à 250 mg Reinsubstanz oral verabreicht.

Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

a) Bei menopausalen Frauen mit CFS (chronic fatigue syndrome) wurde eine dosis-abhängige Zunahme des vaginalen Ausflusses nach 1 bis 2 wöchiger Therapie mit 1-1,5 g Nys beobachtet. Nach Dechallenge sistierte der Ausfluß nach ein bis zwei Tagen und trat bei Challenge erneut auf. Eine Zunahme des Ausflusses wurde erst bei einer Dosis von 500 mg Nys oder Amp beobachtet.

b) Zunahme der Gallenproduktion nach 1 wöchiger Therapie mit Nys. Das Verschwinden von sonographisch nachgewiesenen Gallensteinen bei 4 Patienten nach 2 monatiger Therapie mit 1,2 g Nys und bei einem Patienten mit 1,5 g Amp nach 3-monatiger Therapie.

c) Zunahme der Prostaglandin-Biosynthese nach 1 bis 2 wöchiger Therapie mit 1-1,5 g Nys oder Amp.

d) Dosis-abhängige Abnahme der Plasmakonzentrationen vom Gesamtcholesterin bei Patienten mit Atherosklerose nach 2 bis 8 Wochen. Der Cholesterin-senkende Effekt tritt erst bei einer Tagesdosis von 500 mg auf und führt zu einer anhaltenden Senkung der Cholesterinwerte bei einer Tagesdosis von 1-1,5 g Nys oder Amp. Zunahme der Cholesterinwerte nach Dechallenge.

e) Rückbildung der Symptome, wie allergische Rhinitis, Asthmaanfälle und Lebensmittelunverträglichkeiten, bei therapieresistenten Allergien, wie Staubmilbenallergien, Lebensmittelallergien, etc., nach 6 bis 8-wöchiger Therapie mit einer Tagesdosis von 1g Nys oder Amp.

f) Abnahme der Prostatahypertrophie bei älteren männlichen Patienten nach 3 bis 6-monatiger Therapie mit 1-1,5 g Nys oder Amp. Zunahme der Hypertrophie etwa 3 Monate nach Absetzen der Therapie.

g) Verbesserung des Hautturgors nach oraler Gabe von Nys

oder Amp. Rückbildung nach Dechallenge.

h) Senkung der Mortalität und der Infektionsmorbidity (durch Stimulation der Immunantwort) bei Intensiv-Patienten mit schwersten multiplen Traumata nach Gabe von 3 g Amp täglich als  
5 orale Paste, beginnend 24 Stunden nach den Traumata.

i) Zunahme des Körpergewichts (5 bis 10 kg) bei kachektischen Tumor-Patienten im Endstadium nach 2 bis 4 Wochen Therapie mit 1,5-2 g Nys oder Amp. Gewichtsabnahme nach Absetzen der Therapie durch externe Ärzte. Erneute Zunahme nach Wiederauf-  
10 nahme der Therapie.

j) Dosisabhängige Rückbildung (erst bei einer Tagesdosis von 1g Nys oder Amp) der Symptome bei CFS nach 4 bis 8 Wochen. Kein Dechallenge durchgeführt.

Darüber hinaus wurden kinetische Untersuchungen mit Nys  
15 durchgeführt. Vier Patienten, bei denen eine Cholezystektomie durchgeführt wurde, erhielten eine Woche vor der Operation und eine Woche nach der Operation täglich 1 g Nys oral. Während der Operation wurden Gewebeproben aus der Gallenwand, Galle und Leber entnommen. In den ersten postoperativen Tagen wurden Gal-  
20 lenproben aus der T-Drainage gewonnen. Die Gewebskonzentrationen von Nys lagen zwischen 80 und 180 µg/g in der Leber, zwischen 50 und 120 µg/g in der Gallenwand und zwischen 30 und 150 µg/ml in der Galle. Diese vorläufigen Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen aus anderen kinetischen Studien, die allerdings  
25 mit i.v. Amp durchgeführt wurden, überein (Collette N et al, in Antimicrob Agents and Chemoth, 33, 1989, 362-68, RM Lawrence et al in J Antimicrob Chemoth, 6, 1980, 241-49). Diese Studien zeigen, daß sich i.v. Amp vorwiegend in der Leber, Galle und Milz anreichert. Man kann davon ausgehen, daß sich die lipophi-  
30 len Polyene nach Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt vorwiegend in wichtigen sekundären immunologischen Organen verteilen.

## VII. Neue klinische Indikationen für Polyen-Makrolide

### 1. Viruskrankheiten

Jedes Viruspartikel dringt in die Wirtszelle durch Verschmelzung mit deren Zellmembran ein und entleert anschließend den Partikelinhalt in die Zelle. Bei diesem Prozeß verbleiben viruseigene Membranproteine in der Wirtszellmembran und können als Marker bestimmt werden. Solche Virus-Proteine haben aufgrund der sich aus dem BP ergebenden Überlegungen die Aufgabe, durch die elektromagnetische, delokalisierte Kopplung der LRK das Virusgenom in der DNA der Zelle zu steuern und auf diese Weise die Virus-Replikation zu ermöglichen. Diese energetische Kopplung wurde von der Genetik bisher nicht erkannt. Wenn die Expression solcher viruseigener Proteine in der Wirtszelle unterdrückt wird, etwa durch Endozytose, findet keine Virusreplikation statt. Die Replikation des Virus erfordert optimale Bedingungen. In den meisten Fällen wird die viruseigene DNA, bzw. RNA, durch Repair-Mechanismen abgebaut und das Virus in der Zelle verstoffwechselt. Nur in einer von etwa 10.000 Zellen, welche mit dem HIV infiziert werden, kommt es zur Replikation. Die Leistungsfähigkeit der Repair-Mechanismen nimmt mit der Stimulation der Zelle zu. Durch eine vermehrte Depolarisation der Zellen steigt die Effizienz aller Zellreaktionen, einschließlich der Repair-Mechanismen, an. Eine vermehrte Depolarisation virusinfizierter Zellen führt aber auch zu einer vermehrten Endozytose viruseigener Membranproteine. Da sie nicht mehr an der Oberfläche der Zellen erscheinen, findet auch die spezifische elektromagnetische Kopplung mit der proviralen DNA nicht mehr statt. Dies ist eine knappe Darstellung des bioenergetischen Mechanismus der Virusreplikation in der menschlichen Zelle. Daraus ergeben sich zwei wichtige Schlußfolgerungen: a) während einer Depolarisation verschwinden die viruseigenen Membranproteine von der Zelloberfläche infizierter Zellen und können als Marker nicht mehr gemessen werden; während einer Repolarisation werden sie vermehrt exprimiert; b) depolarisierende Substanzen haben eine antivirale Wirkung, weil sie sowohl die Endozytose der viruseigenen Membranproteine als auch die Repair-Mechanismen in den infizierten Zellen fördern und damit die Replikation des Virus hemmen. Diese Effekte können für Nys und andere Polyen-Makrolide bei allen bisher untersuchten Viren

bestätigt werden.

a) AIDS

Zur AIDS-Ätiologie und seiner Therapie mit Nys liegt eine ausführliche wissenschaftliche Ausarbeitung von Dr. med. G. Stankov vor (April 1995, Copyright DIAS Institut). Sie berücksichtigt die neuesten Daten der AIDS-Forschung bis April 1995. Die wesentlichen Aspekte der AIDS-Entstehung und der AIDS-Therapie mit Nys sind im folgenden Abschnitt kurz zusammengefaßt:

Das HIV-Membranprotein gp41-gp120 zeigt eine strukturelle Homologie mit MHC-Klasse-II-Proteinen, welche in der MHC-eingeschränkten T-Zell-Stimulation im Thymus eine entscheidende Rolle spielt. Die Interaktion zwischen dem MHC-Molekül der antigen-präsentierten Zellen (APC) und dem T-Zellrezeptor sowie anderen Rezeptoren des CD-Typs erfolgt über deren Soliton-Triplets und führt sowohl durch direkte Depolarisation als auch durch die Ausschüttung von Lymphokinen, zur Stimulation der beteiligten Immunzellen. Das HIV-Protein imitiert das MHC-Molekül und benutzt die körpereigenen immunstimulierenden Mechanismen, um die Virusreplikation durch die elektromagnetische Kopplung zu steuern. Es kommt zu einer CD4-Depletion, weil diese T-Zellsubpopulation an der MHC-eingeschränkten T-Zell-Stimulation im Thymus und in den Lymphknoten maßgeblich beteiligt ist. Die Expression von gp41-gp120 führt zur gesteigerten Apoptosis der CD4-Zellen und ist für die Virus-Pathogenität von entscheidender Bedeutung. gp41 entspricht dem transmembranen Teil von MHC, gp120 dem variablen extrazellulären Teil. gp120 verändert sich unter dem bioenergetischen Zwang der Immunantwort. Es mutiert sehr rasch unter einer virostatistischen (zellhemmenden) Therapie und bildet eine Ein-Schritt-Resistenz. Daraus folgt auch die prinzipielle Unmöglichkeit, eine Impfung zu entwickeln. Die Virusreplikation findet während der gesamten Krankheitsdauer statt. Der AIDS-related Komplex stellt nur die letzte manifeste Phase der Krankheitsdekompensation dar. Zur Zeit werden die Patienten nur in dieser letzten Phase mit AZT (Ziduvodin) behandelt. AZT ist nach dem Dipol-Modell eine zellhemmende Sub-

stanz und erhöht die Mortalität der AIDS-Patienten gegenüber Placebo. Die CONCORDE-Studie, welche die Wirkung von AZT in der Frühphase von HIV-Patienten untersucht hat, bestätigt diese Schlußfolgerung im Sinne des BP (Lancet, Vol. 343, 1994, 871-881). Zur Zeit gibt es also keine effektive Therapie gegen AIDS.

Eine Behandlung mit Nys und anderen Polyen-Makroliden muß nach dem erfindungsgemäßen Modell sowohl die Expression von gp-41-gp120 als auch die HIV-Replikation in den infizierten Zellen hemmen. Nys und Amp hemmen in vitro die Expression von gp120 und gp41 und p24 in H9 Lymphozyten und unterdrücken die reverse Transkriptase (Selvam MP et al. in AIDS Res & Human Retrovirus, Vol 9, 1993, 475-481). Diese in vitro Untersuchung gibt allerdings keinen Hinweis auf die mögliche HIV-Hemmung in vivo. Auch ergibt sich daraus keine Therapieempfehlung für Nys oder andere Polyene bei HIV-Patienten, da eine Erklärung der AIDS-Pathogenese erst mit der Entdeckung des BPs möglich wurde. Insbesondere findet man im Stand der Technik keinen Hinweis, orales Nystatin, in den erfindungsgemäß empfohlenen hohen Dosen, bereits nach Serokonversion chronisch zur Stärkung des Immunsystems der HIV-Patienten zu verabreichen, da man davon ausging, daß Polyene nicht resorbiert werden, und da man die zellstimulatorischen Eigenschaften von Nys nicht kannte. Es ist weder aus der Literatur noch aus der Praxis bekannt, daß HIV-Patienten mit Nys oder einem anderen Polyen in der Frühphase therapiert wurden, um damit die HIV-Replikation durch eine Immunstimulation zu unterdrücken und auf diese Weise den Ausbruch der Krankheit zu verhindern.

HIV-Patienten sollen aufgrund der erfindungsgemäßen Erkenntnisse, vorzugsweise sofort nach Serokonversion, mit Polyenmakroliden, wie Nys oder Amp, behandelt werden. Die Therapie muß chronisch für die Dauer der Erkrankung erfolgen. Die empfohlene tägliche orale Dosierung liegt je nach Bedarf bei etwa 0,5 bis 5 g, vorzugsweise etwa 1 g bis 3 g, insbesondere 1,5 - 2g Polyen-Makrolid.

Der antivirale Effekt von Polyen-Makroliden wurde bei allen bisher in vitro untersuchten Viren bestätigt. Es folgt eine kurze Zusammenfassung erfindungsgemäßer Beobachtungen.

b) Herpes simplex Virus (HSV) Infektionen

- 5        Polyenmakrolide, wie Nys und Amp, hemmen HSV I und HSV II in Zellkulturen in Konzentrationen zwischen 3 und 25 µg/ml. Erfindungsgemäß kann eine rasche Besserung von labialen HSV-Infektionen nach topischer Gabe von Salben (40 - 200 mg, vorzugsweise etwa 50 - 100 mg Polyen-Makrolid/g Salbe) erzielt werden. Das Medikament muß mehrmals verabreicht werden. Je nach  
10        Wirkstoffkonzentration können 3 bis 10, vorzugsweise 5 bis 8, Auftragungen täglich erfolgen. Eine, vorzugsweise chronische, Gabe von oralem Makrolid kann das rezidivierende Auftreten von Herpes verhindern. Die Tagesdosis bei chronischer oraler Behandlung liegt im Bereich von etwa 0,5 bis 5 g, vorzugsweise etwa  
15        1 bis 3 g, insbesondere etwa 1 - 1,5 g.

c) Herpes Zoster Varicella (HZV) Infektion

- Polyenmakrolide, wie Nys und Amp, hemmen HZV in Zellkulturen in Konzentrationen zwischen 3 und 25 µg/ml. Nach topischer  
20        Gabe hochdosierter Salben (etwa 40-200 mg Nys/Amp, vorzugsweise etwa 50-100 mg/g Salbe) bilden sich die Effloreszenzen der Gürtelrose schneller zurück als ohne Therapie. Die Auftragung kann mehrmals täglich, wie z. B. 3 bis 6 mal, erfolgen.

d) Hepatitis B Virus (HBV)

- 25        Polyenmakrolide, wie Nys und Amp, hemmen dosisabhängig die Produktion von Hepatitis B Oberflächenantigen (HbsAg) in der menschlichen Hepatoma Zelllinie PLC/PRF/5.

- Nach chronischer oraler Gabe von etwa 0,5-3 g, vorzugsweise etwa 1-1,5 g Wirkstoff täglich kann eine Rückbildung der  
30        Symptomatik und Verbesserung der Leberfunktion erreicht werden.

e) Vesicular Stomatitis (VS) Influenza und Reuscher Leukemia Virionen

Polyenmakrolide, wie Nys, Amp und Filipin inaktivieren diese Virionen in vitro.

f) Andere Virusinfektionen: Nys hemmt in vitro Sindbis Virus und Vaccinia Virus.

5 g) Rezidivierende Stomatitis aphthosa (RAS)

Die Pathogenese von RAS ist nicht eindeutig geklärt, aber es gibt viele Hinweise, daß eine Reihe endogener Viren RAS auslösen kann. Bisher gab es keine erfolgreiche Therapie gegen RAS. Erfindungsgemäß können RAS-Patienten mit einer Schleim-  
10 haut-Haftsalbe, die Nys, Amp oder ein anderes Makrolid enthält, mehrmals am Tag topisch behandelt werden. Die Behandlung kann beispielsweise in 1- bis 3-stündigen Intervallen 2 bis 8 mal täglich erfolgen. Der Wirkstoff-Gehalt der Haftsalbe liegt bei 20 bis 200 mg, vorzugsweise bei 20 bis 50 mg/g Salbe. RAS  
15 bildet sich nach 24 bis 48 Stunden zurück (ohne Therapie 5 bis 7 Tage). Nach Nys-Gabe kommt es rasch zu einer Schmerzlinderung.

h) Auf der Basis der o.g. Daten und der theoretischen Schlußfolgerungen aus dem BP, muß man davon ausgehen, daß Polyen-Makrolide (topisch und oral) auch bei den folgenden Virusinfektionen therapeutisch wirksam sind, ohne jedoch darauf be-  
20 schränkt zu sein:

Infektionen mit Picornaviridae (z.B. Poliovirus) Caliciviridae, (z.B. Norwalk Virus), togaviridae (z.B. Rubella Virus),  
25 Flaviviridae (z.B. Gelbfiebervirus), Coronaviridae, Rhabdoviridae (Rabies Virus), Filoviridae (Marburg Virus), Paramyxoviridae (Rötelnvirus), Orthomyxoviridae, Bunyaviridae (z.B. California Encephalitis Virus), Arenaviridae (Lymphozytäre Chorio-  
meningitis Virus), Reoviridae (z.B. Rotavirus), Retroviridae  
30 (z.B. HIV-1), Hepadnaviridae (z.B. Hepatitis A und Hepatitis B Virus) Parvoviridae (z.B. Human Parvovirus B-19), Papovaviridae (z.B. JG Virus) Adenoviridae (z.B. Human Adenovirus), Herpesviridae, Poxviridae, Epstein-Barr Virus (z.B. Infektiöse Mononukleose) Cytomegalovirus.

2. Krankheiten mit unzureichender Immunreaktion, bedingt durch eine angeborene oder erworbene energetische Beeinträchtigung der Funktion der MHC Klasse I und II Moleküle und/oder anderer integraler Proteine

5       Anhand der neuesten experimentellen Ergebnisse kann im Sinne des BP gezeigt werden, daß fast alle chronischen Erkrankungen mit einer Beeinträchtigung des Immunsystems einhergehen (siehe auch Krankheiten mit Immunopathogenese, Harrison, Principles of Internal Medicine, McGraw Hill, 1992). In der Regel  
10 handelt es sich, wie sich aus erfindungsgemäßen Überlegungen ergibt, um eine Störung der Energieübertragung immunspezifischer Membranproteine. Man findet entweder erworbene Mutationen, welche die Soliton-spezifischen Aminosäuren betreffen oder angeborene Varianten, etwa HLA-Allele, welche bei bestimmten  
15 Krankheiten signifikant häufiger auftreten. Viele Krankheiten sind mit einer beeinträchtigten Funktion der MHC Klasse I und II-Moleküle assoziiert. Die Defekte betreffen meistens die Soliton-Triplets der Peptid-Bindungsstelle für Selbst- und Alloproteine (HLA-Assoziation, HLA = Human Leucocyte-Associated Anti-  
20 gen). Es kommt zu einer unzureichenden Präsentation von Antigenen im Thymus und in den anderen sekundären Immunorganen und zur Bildung einer unzureichenden zellvermittelten (T-Zellen) und humoralen (B-Zellen) Immunantwort. Die MHC-T-Zell-Rezeptor Interaktion ist energetisch beeinträchtigt und die Stimulation  
25 der T-Zellen und der B-Zellen (APC) ungenügend. Das gesamte Immunsystem ist im energetischen Sinne insuffizient, da alle immunspezifischen Zellinteraktionen miteinander gekoppelt sind und über eine Depolarisation (z.B. Wachstum, Antikörperproduktion, Phagozytose, Apoptosis, etc.) oder Repolarisation (z.B.  
30 Differenzierung, Chemotaxis, etc.) gesteuert werden. Auf eine detaillierte Beschreibung dieser komplexen immunologischen Vorgänge im Sinne des BPs muß an dieser Stelle verzichtet werden. Einzelne Beispiele einer HLA-Assoziation folgen unten. Rheumatoide Arthritis (RA) und Multiple Sklerose (MS) sind typische  
35 Beispiele für chronische Krankheiten mit Immunopathogenese, welche auf eine beeinträchtigte Funktion von MHC Klasse I und

II-Molekülen und von anderen integralen Proteinen zurückgeführt werden kann.

a) Rheumatoide Arthritis (RA)

Eine eng definierte Gruppe genetisch determinierter MHC Klasse II-Moleküle prädisponiert zur Entstehung von RA. Ein erhöhtes Risiko ist mit HLA-DR assoziiert und betrifft Mutationen Soliton-spezifischer Aminosäuren (Glu und Lys an der Position 70/71 auf der HLA-DR $\beta$ 1-Kette). Die Kollagenarthritis und die experimentell Myelinprotein-induzierte allergische Enzephalomyelitis zeigen eine enge Verbindung zu bestimmten MHC Klasse II Molekülen. Die Struktur von MHC Klasse II-Proteinen wurde erst vor kurzem bestimmt (Nature, Vol 368, 1994, 215-220). An allen 15 Wasserstoffbrückenbindungen der Peptid-Bindungsstelle sind Soliton-spezifische Aminosäuren beteiligt. Mutationen dieser Aminosäuren, die bei RA häufiger auftreten (HLA-DR Assoziation), führen zu einer unzureichenden Bindung von Peptiden des körpereigenen Typ II-Kollagens, das in den Knochen ständig auf- und abgebaut wird. Die Kollagen-Typ II-Peptide werden den T-Zellen ungenügend präsentiert, so daß die Selbst-Toleranz gegen dieses Kollagen nicht adäquat ausgebildet werden kann. MHC Klasse II-Moleküle sind für die MHC-eingeschränkte T-Zell-Stimulation entscheidend. Sie wird, wie bereits erwähnt, durch eine Depolarisation vermittelt. Bei RA ist die Aktivierung der T-Zellen ungenügend, und dies führt zu einer zellvermittelten Auto-Reaktivität gegen Kollagen. Der RA-Pathogenese liegt also eine energetische Ursache zugrunde.

Bei RA findet man CD4 Zellen in großen Mengen am Ort der Entzündung. Dies ist ein häufiger Befund bei vielen zellvermittelten Autoimmunerkrankungen und ein deutlicher Hinweis für die herabgesetzte Effizienz der T-Zellen durch ungenügende Stimulation. Im Gegensatz zu der weitverbreiteten Vorstellung in der Medizin stellt die Ausbildung einer Auto-Reaktivität keine Enthemmung der Immunantwort dar, die man durch zellhemmende Medikamente wie Immunsuppressiva unterdrücken soll, sondern eine energetisch bedingte Insuffizienz der beteiligten Immunzel-

len, welche man durch zellstimulierende Medikamente beheben kann. Der Rheumafaktor, es handelt sich vorwiegend um Autoantikörper des IgM Isotypes, kommt bei RA-Patienten häufig vor. Die Ig-Produktion der synovialen B-Zellen zeigt eine Anti-Kollagen-II-Typ-Aktivität. Dies ist ein wichtiger Hinweis, daß die Peptide dieses Kollagens von den MHC Klasse II Molekülen der APC-Zellen, vor allem der B-Lymphozyten, nicht adäquat gebunden und präsentiert werden können. Dies führt zur Ausbildung von insuffizienten T- und B-Zellen. Polyenmakrolide, wie Nys und Amp, stimulieren sowohl die B- als auch die T-Zellen durch Depolarisation. Patienten mit chronischer RA, welche erfindungsgemäß z.B. mit 1 g oralem Nys/Amp täglich behandelt werden, zeigen eine deutliche und nachhaltige Verbesserung der Symptomatik nach ca. 1,5 bis 3 Monaten. Die Therapie erfolgt vorzugsweise chronisch. Die empfohlene Dosierung des Makrolids beträgt daher etwa 0,5 bis 4 g, vorzugsweise etwa 1 bis 2 g/Tag, je nach Zustand und Progression der RA.

#### b) Multiple Sklerose (MS)

MS ist charakterisiert durch Demyelinierung des ZNS im Rahmen eines inflammatorischen Prozesses. MS zeigt einen intermittierenden Verlauf. Wie bei RA, sind CD4-Zellen und B-Lymphozyten am Ort der Entzündung zu finden. Spezifische MHC Klasse II Allele (Drw15 und Dqw6) sind mit einem erhöhten MS-Risiko assoziiert und bestätigen denselben Befund, wie bei RA: Eine unzureichende Bindung körpereigener Peptide bei bestimmten HLA-Allelen führt zu einer beeinträchtigten Ausbildung der Immunantwort. Es kommt zur Autoreaktivität gegen ZNS-Proteine, weil die Selbst-Toleranz nicht adäquat ausgebildet werden kann. Polyenmakrolide, wie Nys oder Amp (etwa 0,5 bis 4 g, vorzugsweise etwa 1 bis 1,5 g oral pro Tag), verbessern deutlich die MS-Symptomatik der Patienten und kann in der Frühphase sogar zur Heilung führen. Eine chronische Therapie ist bevorzugt.

c) Die beiden Krankheiten, RA und MS, sind repräsentativ für eine Reihe von Krankheiten mit beeinträchtigter Funktion der MHC Klasse I oder Klasse II Moleküle (HLA-Assoziation) oder

anderer Integralproteine. Sie weisen die gleiche, energetisch bedingte Pathogenese auf, auch wenn ihre Symptome unterschiedliche Form und anatomische Verteilung annehmen können. Alle diesen Erkrankungen können erfolgreich durch, vorzugsweise

5 chronische, Gabe von oralem Nys, Amp oder einem andere Polyen-Makrolid behandelt werden. Die Tagesdosis liegt dabei im Bereich von etwa 0,5-5 g, vorzugsweise etwa 1-2 g. Bei den meisten Krankheiten ist eine HLA-Assoziation bekannt. Sie werden unten nach anatomischen Gesichtspunkten zusammengefaßt (soweit

10 möglich, wird in Klammern das entsprechende HLA-Allel angegeben):

Knochenerkrankungen: ankylosierende Spondylitis (B27), Reiter's Syndrom (B27), reaktive Arthritis bei Yersinia, Salmonella oder Gonococcus (B27), Arthritis bei Psoriasis (B27,

15 Bw38), juvenile rheumatoide Arthritis (B27, Drw8), rheumatoide Arthritis (Dw4, DR4), Osteoarthritis.

Gastrointestinale Erkrankungen: Gluten-sensitive Enteropathie (DR3), andere Lebensmittelenteropathien, chronisch-aktive Hepatitis (DR3), Colitis ulzerosa (B5, CD44), akute Uveitis

20 (B27), Morbus Crohn (CD44), Leberzirrhose.

Hautkrankheiten: Dermatitis herpetiformis (Dw3), Psoriasis vulgaris (Cw6), Pemphigus vulgaris (DR4, A10), Lichen ruber, Behcet's Krankheit (B4), systemische Lupus erythematosus (DR3),

25 endogenes Ekzem oder andere Formen der Atopie (z.B. Neurodermitis), alle Formen der Allergie, Sjögren Syndrom (Dw3), Dermatomyositis, Sklerodermie, chronische Vaskulitis (z.B. Raynaud's Syndrom), Krankheiten der Haarwurzel.

Hämatologische Krankheiten: idiopathische Hämochromatose (A3, B14), Kälte-Agglutinin-Krankheit, Kryoglobulinämia, Porphyrie

30

Endokrine Erkrankungen: Typ I Diabetes mellitus (DR4, DR3, DR2, BfF1), Hyperthyroidismus (B8, Dw3), Hyperthyroidismus bei Japanern (Bw35), Nebenniereninsuffizienz (Dw3), subakute Thyroiditis de Quervain (Bw35), Hashimoto's Thyroiditis (DR5),

congenitale Nebennierenhyperplasie (Bw47), distress Syndrom, chronic fatigue syndrome (chronisches Erschöpfungssyndrom), postmenopausales Syndrom, primäre und sekundäre Amyloidose, Gicht, zystische Fibrose.

- 5           Neurologische Erkrankungen: Myasthenia gravis (B8, DR3), Multiple Sklerose (DR2), manisch-depressive Krankheit (Bw16), Schizophrenie (A28), Polyneuroradikulitis (Guillain-Barre Syndrom), Polymyositis, slow-virus-Krankheiten des ZNS, andere systemische Krankheiten des ZNS (z.B. amyotrophische Lateralsklerose), Morbus Alzheimer
- 10

Nierenerkrankungen: idiopathische membranöse Glomerulonephritis (DR3), Goodpasture's Syndrom (anti-GBM, DR2), minimal change disease (B12), polyzystische Niere (B5), IgA Nephropathie (DR4).

- 15           Immunologische Infektionskrankheiten: Lepra (B8) paralytische Poliomyelitis (Bw16), IgA-Insuffizienz (DR3), Sarkoidose

3.   Krankheiten mit äußerer oder innerer Ursache, die mit einer transitorischen oder chronischen Immuninsuffizienz einhergehen.

- 20   a) Sepsis:

Um das Sepsisrisiko zu vermindern, werden Polyenmakrolide, wie Nys oder Amp, parenteral zur selektiven Darmdekontamination bei Intensivpatienten nach einem schweren Trauma verabreicht. Versuche zeigen, daß mit Amp die Mortalität der Patienten gesenkt werden kann. Die Tagesdosis liegt bei etwa 1-5 g, vorzugsweise etwa 2 bis 4g, insbesondere bei etwa 3 g. Die Behandlungsdauer beträgt mehrere Wochen, z.B. während des Aufenthalts auf der Intensivstation.

25

b) Immunschwäche nach chronischer Antibiotikatherapie:

- 30           Polyenmakrolide, wie Nys oder Amp, können erfindungsgemäß bei Patienten mit Immunschwäche und rezidivierenden Infektionen, bedingt durch chronische Antibiotikagabe, oral verabreicht werden. Die Infektionsrate kann nach einer etwa 6-wöchigen bis

3-monatigen Therapie gesenkt werden. Die Therapiedauer beträgt mindestens etwa 6 Monate, bei einer Dosis von etwa 0,5-4g, vorzugsweise etwa 1-1,5g Nys oder Amp/Tag.

- 5 c) Chronisches Erschöpfungssyndrom (chronic fatigue syndrome, CFS):

Die Diagnose von CFS erfolgt nach der CDC Klassifikation und ist eine häufige Erkrankung, welche sowohl durch äußere Ursachen wie Infektionen und Antibiotikagabe als auch durch innere Ursachen, (Stress, Hormoninsuffizienz, Immuninsuffizienz) 10 auftreten kann. CFS geht mit einer chronischen Immunschwäche einher. Die gegenseitige Beeinflussung von psychischen, humoralen und endokrinen Faktoren, die man bei CFS regelmäßig beobachten kann, wird erst im Sinne des BPs geklärt. Alle physiologischen Faktoren haben dieselbe Effektorebene: sie regulieren 15 die Zellen, indem sie ihr Membranpotential verändern. CFS ist eine klassische Indikation für eine Therapie mit Polyenmakroliden, wie Nys oder Amp (siehe experimenteller Teil). Erfindungsgemäß behandelt man CFS mit einer täglichen Dosis von etwa 0,5-4 g, vorzugsweise etwa 1 bis 2 g. Die Behandlungsdauer kann 3-6 20 Monate oder länger sein.

d) Andere Krankheiten: jede Form von erworbenen oder angeborenen Allergien, welche mit Beteiligung der Atemwege (z. B. Rhinitis, Asthma, etc.) oder des Gastrointestinal-Traktes (z. B. Lebensmittelenteropathien) einhergehen.

- 25 4. Krebserkrankungen (Neoplasien jeder Art)

Krebs hat vier charakteristische Eigenschaften: a) er entsteht aus einzelnen transformierten Zellen (Klonalität); b) Zellstimulation, Wachstum und Proliferation der Tumorzellen entziehen sich der physiologischen suprazellulären Regulation 30 und werden durch Autostimulation gesteuert (Autonomie); c) eine normale Zelldifferenzierung ist nicht vorhanden (Anaplasie); d) Die Tumorzellen können den Zellverband verlassen und disseminieren (Metastasierung).

Alle diese Phänomene können energetisch im Sinne der Er-

findung erklärt werden. Die quantenmechanischen Mechanismen wurden kurz vorgestellt. Die Transformation zu karzinogenen Zellen ist stets ein Produkt ungenügender Zellstimulation. Umweltgifte, wie Nikotin, Teerstoffe oder Asbest (Hemmung der  
5 Energieumwandlung an den Membranen aufgrund der Dipoleigenschaften dieser Karzinogene), chronische Therapie mit zellhemmenden Substanzen (z.B. mit Cyclosporin oder anderen Immunsuppressiva) oder Strahlung (direkte energetische Einwirkung auf die DNA und Hemmung der DNA-Solitonen) führen zu einer erhöhten  
10 Entropie in den Zellen. In allen diesen Fällen wird die Umwandlung der LRK im Rahmen eines Aktionspotentials gehemmt. Eine erhöhte Entropie führt zu einer Erhöhung der Freiheitsgrade der Moleküle in der Zelle ( $dS = R \cdot \ln Z_1 : Z_2$ ). Dies betrifft auch alle an der Transkription beteiligten Biostrukturen (DNA, RNA, DNA-regulierende Proteine, etc). Die Wahrscheinlichkeit, daß falsche Nukleotide eingebaut werden und Mutationen auftreten,  
15 steigt an. Manche dieser Mutationen erweisen sich als energetisch vorteilhaft für die Zellen. Bei sehr vielen Krebszellen beobachtet man eine durch Mutationen bedingte Überproduktion von Wachstumsfaktoren oder Rezeptoren von Wachstumshormonen,  
20 die zur Überdepolarisation der Zelle führen. Es kommt zu einer Autostimulation der Krebszellen. Auf diese Weise werden die Krebszellen unabhängig von der suprazellulären Regulation. Die Transformation zur Krebszelle ist stets das Ergebnis einer insuffizienten Zellstimulation und stellt einen Evolutionsprozess (=Anpassungsprozess) der Zelle auf Kosten der Selbstorganisation des Organismus dar. Die Überproduktion von Wachstumsfaktoren oder die Umwandlung von Protoonkogenen in Onkogenen ist meistens das Ergebnis erworbener Mutationen in den Krebszellen,  
25 obwohl auch genetisch angeborene Mutationen zur Transformation beitragen können. Es bedarf in der Regel mehr als einer energetisch bedingten Veränderung (Transformationsschwelle), bis die Zelle mutiert. Krebszellen sind, im Gegensatz zu den normalen Zellen, in vitro unsterblich, weil ihre Stimulation autosuffizient ist. Durch die einseitige Stimulation der Krebszellen  
30 kommt es zu einer herabgesetzten Differenzierung und zur vermehrten Endozytose integraler Proteine. Wichtige Membranprotei-

ne, vor allem solche, die für die Bildung von "tight junctions" verantwortlich sind, erscheinen nicht an der Zelloberfläche. Die Krebszellen verlieren die Fähigkeit an benachbarten Zellen zu haften und verlassen vermehrt den Zellverband. Durch die  
5 übermäßige Autostimulation vermehren sie sich verstärkt. Allerdings wird die Wachstumsrate der Tumorzellen meistens stark überschätzt. Die meisten Krebszellen wachsen nicht wesentlich schneller als viele normale Körperzellen, sie wachsen nur unkoordiniert, außerhalb der physiologischen suprazellulären Regulation.  
10

Es gibt zwei Möglichkeiten Krebszellen zu vernichten: durch eine Hemmung des Energieaustausches an der Plasmamembran oder durch Apoptosis.

Der erste Mechanismus wird als einziger zur Zeit in der  
15 Krebstherapie ausgenutzt. Alle Zytostatika sind nach dem Dipol-Modell starke zellhemmende Substanzen, die sowohl die gesunden als auch die Krebszellen unspezifisch hemmen. Da die Immunzellen schnell proliferieren, hemmen die Zytostatika in erheblichem Umfang auch das Immunsystem. Das Immunsystem ist die  
20 stärkste natürliche Abwehr des Organismus gegen Krebszellen. Es steuert den gesamten Zellumbau, und vernichtet vor allem neu-entstandene Krebszellen. Da in unserem Körper ständig Krebszellen mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit entstehen, ist eine intakte Immunabwehr eine unabdingbare Voraussetzung für die Ver-  
25 hinderung von Krebs. Bei der Zytostatikatherapie wird bewußt in Kauf genommen, daß die Immunabwehr unterdrückt wird.

Der zweite, physiologische Mechanismus, den die Immunzellen benutzen, um Krebszellen zu vernichten, ist die Apoptosis. Immunzellen findet man häufig in der Nähe von Tumorzellen. Sie  
30 produzieren vermehrt Lymphokine und andere depolarisierende oder repolarisierende Substanzen und lösen durch eine übermäßige De- oder Repolarisation eine Apoptosis der Krebszellen aus. Sie benutzen zu diesen Effekt auch zellständige Proteine, mit denen sie in Kontakt mit den Krebszellen treten (z.B. Killerzellen).  
35 Da die Krebszellen, a priori stärker als die normalen

Zellen stimuliert sind, kommt es zu einer selektiven Apoptosis der Tumorzellen.

Die antikarzinogene Wirkung von erfindungsgemäßen Polyen-Makroliden kann somit auf folgenden Effekten beruhen, die

5 gleichzeitig auftreten können:

- Die Immunzellen werden durch das Makrolid stimuliert. Diese vernichten verstärkt die Krebszellen durch Apoptosis.
- das Makrolid stimuliert direkt die Krebszellen und löst durch Depolarisation vermehrt ihre Apoptosis aus. Dieser Effekt ist besonders ausgeprägt bei Lebermetastasen, da sich das Makrolid in hohen Konzentrationen in der Leber anreichert. Das Makrolid führt zur Rückbildung der Lebermetastasen. Zur Zeit gibt es kein Mittel gegen Lebermetastasen.
- 10
- 15 - das Makrolid verbessert die suprazelluläre Regulation gesunder Zellen, die sich an der Schwelle zur Transformation befinden und verhindert damit ihre Umwandlung zu Krebszellen.
- das Makrolid stimuliert alle Körperzellen und stärkt auf diese Weise die unspezifische Abwehr des Organismus.
- 20

Die Behandlung von Krebs mit den erfindungsgemäßen Makroliden stellt einen fundamental neuen Ansatz dar, der die bisherige Zytostatikatherapie als ungeeignet verwirft und auf der Basis der natürlichen Abwehrmechanismen aufbaut. Sie führen zur Rückbildung von Metastasen und verbessert deutlich die Lebensqualität bei soliden Tumoren. Es gibt Anzeichen, daß die Lebenserwartung deutlich verlängert wird. Sie können große solide Tumore nicht vollständig zum Verschwinden bringen. Hier scheint eine Kombination aus chirurgischer Entfernung und medikamentöser Behandlung mit Makroliden erfolgversprechender zu sein als die rein medikamentöse Behandlung. Allerdings muß man von Fall zu Fall auch das Operations-Risiko mitberücksichtigen. Die Polyen-Makrolide werden eine herausragende Bedeutung in der Krebsprophylaxe besitzen. Je früher die Therapie mit Makroliden

25

30

beginnt, umso besser die Prognose. Die Krebstherapie mit Makroliden, wie Nys und Amp, erfolgt vorzugsweise chronisch. Die Tagesdosis liegt bei etwa 0,5-5 g, vorzugsweise bei etwa 1 bis 3 g, je nach Zustand des Patienten und Krankheitsstadium.

5 5. Wundheilung, Krankheiten mit gestörter Wundheilung

Besonders deutlich zu beobachten ist der therapeutische Effekt von Polyen-Makroliden, wie Nys und Amp, (vorwiegend nach topischer Anwendung) bei der Förderung der Wundheilung. Durch Depolarisation wird ein schnelles Zellwachstum ausgelöst. Auf  
10 dieselbe Weise erfolgt auch die physiologische Heilung. Jede Wunde ist von Immunzellen umsäumt, die das Wachstum der geschädigten Gewebzellen durch die Ausschüttung von stimulierenden Lymphokinen, Eucosanoiden und anderen humoralen Faktoren energetisch fördern. Polyen-Makrolide, wie Nys und Amp, können er-  
15 findungsgemäß in hohen Dosierungen (500 000 bis 1 000 000 I.E./g Grundsalbe oder z.B. in 5 bis 10%-iger DMSO-Lösung) mehrmals am Tag, wie z. B. 3 bis 8 Mal, verwendet werden. Folgende Krankheiten können erfindungsgemäß mit Polyen-Makroliden, wie Nys und Amp, topisch behandelt werden (vgl. experimenteller  
20 Teil):

- jede Art von Wunden
- Ulcus cruris
- Dekubitus oder andere chronisch-trophische Störungen
- Verbrennungen. Verbrennungen müssen sofort mit Nys behandelt werden. Der Effekt tritt nach wenigen Minuten auf.  
25 Nys verhindert das Auftreten von Blasen. Insbesondere geeignet ist die Gabe von Polyen-Makroliden, wie Nys bei Sonnenbrand.

30 6. Krankheiten, die aufgrund von Störungen im Cholesterinstoffwechsel auftreten

a) Atherosklerose (AS) und Hypercholesterinämie

Bisher war die Pathogenese von AS unbekannt. Es gibt eine Reihe von Hypothesen und Erklärungsversuchen, die einzelne bekannte Aspekte der AS hervorheben. Die Entstehung von AS kann erst anhand der Lehre der vorliegenden Erfindung richtig erklärt werden. Dies setzt voraus, daß man die Rolle von Cholesterin bei der Energieumwandlung an den biologischen Membranen richtig versteht.

Wie bereits erwähnt, befindet sich Cholesterin in den Membranen in einem molaren Verhältnis von etwa 1:1 zu den übrigen Phospholipiden, welche die Lipiddoppelschicht aufbauen. Seine energetische Funktion ist es, die isolatorischen Eigenschaften der Membranen zu regulieren. Das Cholesterin-Molekül ist fast apolar und ist somit ein sehr guter Isolator. Da die elektrische Kraft der Membranen  $F_E = 10^7 \text{ Vm}^{-1}$  sehr hoch ist, müssen die Zellmembranen über ausgeprägte Isolationseigenschaften verfügen, um als biologische Kondensatoren solche starke elektrische Kräfte aufzubauen. Jede Modulation der dielektrischen Eigenschaften der Membranen führt zu einer Veränderung des Plasmapotentials  $V$  und damit der gespeicherten elektrischen Energie  $E_{el}$ . Die dielektrische Konstante  $\epsilon$  zwischen den Platten eines Kondensators ist bekanntlich umgekehrt proportional zu  $V$  und  $E_{el}$ . Die Veränderung von  $\epsilon$  in den Membranen erlaubt durch eine Veränderung von  $V$  und  $E_{el}$  unendlich viele Möglichkeiten der Beeinflussung der Energieumwandlung in den Zellen. Darauf baut die biologische Regulation der Zellen auf. Cholesterin spielt hier eine zentrale Rolle. Es ist der universelle biologische Regulator von  $\epsilon$  der Membranen und damit auch von der Energieumwandlung in den Zellen. Daher seine fundamentale Bedeutung: einerseits ist Cholesterin lebensnotwendig, andererseits führt eine Hypercholesterinämie zu einer Reihe von Krankheiten und erhöhter Mortalität (das Janus-Molekül).

Cholesterin wird ausschließlich durch de-novo-Synthese in den Zellen gebildet. Cholesterin wird im Lipidmetabolismus der Plasmamembranen schnell verstoffwechselt. Die turn-over-Rate der Zellmembranen ist außerordentlich hoch. Es wird geschätzt, daß der Lipidgehalt der Membranen in wenigen Stunden vollständig

erneuert wird. Eine Zellstimulation führt zu einem erhöhten Membranumsatz. Jede Endozytose integraler Proteine geht z.B. mit einem Verbrauch an Lipidgehalt einher (siehe z.B. die Inositolkaskade). Über 95% des Cholesterins befinden sich in den Zellmembranen. Der Cholesterin-Umsatz findet fast ausschließlich dort statt und ist der Zellstimulation proportional. Je mehr die Zellen stimuliert werden, umso mehr Cholesterin verbrauchen sie, und umso mehr Cholesterin wird über die Mevalonsäuresynthese neu gebildet, denn jede Zellstimulation führt über die LRK zu einer gleichwertigen Zunahme aller Reaktionen in der Zelle. Andererseits können die Zellmembranen Cholesterin nur in ganz bestimmten Mengen aufnehmen, weil dessen Konzentration dort maßgeblich die dielektrischen Eigenschaften der Lipiddoppelschicht bestimmt. Das überschüssige Cholesterol befindet sich in der Zirkulation oder wird in bestimmten Zellen, z.B. in den Makrophagen, den sogenannten Schaumzellen in den atheromatösen Plaques, gespeichert.

Cholesterin wird im Körper als LDL und VLDL transportiert. VDL und VLDL sind große sphärische Partikel, die Cholesterin und Phospholipide in einem Verhältnis von 1:1 und Apolipoproteine (apoA und apoE) beinhalten. ApoA und apoE sind polymorphe Glykoproteine, die mit den apo-Rezeptoren der Zellen in Wechselwirkungen über ihre Soliton-Triplets treten. Die Aufnahme von LDL und VLDL in die Zelle ist an ihr Aktionspotential, bzw. an die diskreten Potentialschwankungen gekoppelt und nimmt während einer Stimulation mit depolarisierenden Substanzen zu. Über diesen aktiven Energietransport werden die Lipide in die Zelle aufgenommen. Alle Zellen haben apo-Rezeptoren. Die Leberzellen weisen besonders viele apo-Rezeptoren auf, weil die Aufnahme von alimentären Fetten und die de novo Synthese von Cholesterin im Organismus vorwiegend in diesem Organ stattfindet. Cholesterin ist ein Prekursor der Steroidsynthese in den Ovarien, in der Nebennierenrinde, in der Prostata und in anderen endokrinen und Geschlechtstorganen. Diese Tatsache ist entscheidend für das Verständnis der therapeutischen Effekte von Nys Amp und anderen Makroliden bei Prostatahyperplasie, postmeno-

pausalem Syndrom, Cholelithiasis und anderen Krankheiten, die durch Entgleisungen des Cholesterinstoffwechsels entstehen.

Unter Berücksichtigung dieser Fakten, kann man die Entstehung von AS logisch und zusammenhängend erklären. Aus energetischen Gründen wird die Cholesterinkonzentration in den Membranen in einem sehr engen Bereich aufrechterhalten. In diesem Bereich sind die dielektrischen Eigenschaften der Membranen und die Energieumwandlung optimal. Der Cholesterinstoffwechsel ist ein sehr dynamischer Prozeß, der vom Gesamtstoffwechsel des Organismus abhängt. Nach der universalen Gleichung des BPs hängt der Cholesterinstoffwechsel direkt vom  $E=E_A \cdot f$  (4) ab. Wenn der Umsatz erhöht ist, wird zwar mehr Cholesterin produziert, doch es gibt kein überschüssiges Cholesterin im Körper, weil es vermehrt an den Membranen verbraucht wird. Nimmt der Körperumsatz - aus welchen Gründen auch immer - ab, dann entsteht ein Überschuß an Cholesterin im Körper - vor allem wenn durch Nahrungszufuhr mehr Kalorien aufgenommen als verbraucht werden. Dieser Cholesterin-Überschuß kann nicht in den Membranen und in den Cholesterin-speichernden Zellen aufgenommen werden und zirkuliert vermehrt im Plasma (LDL und VLDL nehmen zu). Wenn das Angebot die Nachfrage übersteigt, wird Cholesterin in die Intima der Gefäße abgelagert. Hier wird es zunächst von den Makrophagen, den Schaumzellen, und anderen Immunzellen entfernt. Nachdem auch die Kapazität des Immunsystems überfordert ist, lagert sich Cholesterin in der Intima ab. Es entstehen atheromatöse Plaques, die zu den bekannten histologischen Veränderungen der Gefäße bei AS führen. Dies ist der sichtbare Teil der AS-Pathogenese. Die Folgen sind Hypertonie, koronare Herzkrankheit (KHK), Ischämie, Niereninsuffizienz, etc. Es gibt große interindividuelle Unterschiede beim Stoffwechsel - es gibt schnellere und langsamere Nahrungsverwerter in der Bevölkerung. Der Stoffwechselumsatz ist jedenfalls altersabhängig und nimmt im hohen Alter ab. Hypercholesterinämie ist eine ausgesprochene Alterskrankheit. Aber auch andere interindividuelle Faktoren wie eine Immobilität wirken sich prädisponierend aus. Ein herabgesetzter Körperumsatz kann auch genetisch bedingt

sein und sich bereits im Kindesalter manifestieren. Die familiäre Hypercholesterinämie (FH) entsteht durch angeborene Mutationen an den apoA- und apoE-Rezeptoren, die nach den neuesten Erkenntnissen soliton-spezifische AS betreffen. LDL-Rezeptoren in FH-Homozygoten binden apo-A und apo-E unzureichend. Der Lipidtransport in die Zelle und damit die Energieumwandlung ist herabgesetzt. Cholesterin akkumuliert in der Zirkulation. Dieser Überschuß führt zur frühzeitigen Entstehung von AS.

Auch die Therapie von AS läßt sich energetisch erklären. Nys senkt die Serumwerte von Cholesterin bei hypercholesterinämischen Patienten über eine globale Zellstimulation durch Depolarisation. Vor allem kommt es zu einer Stimulation der Hepatozyten: sowohl die de novo Synthese als auch der Cholesterinverbrauch nehmen zu. Die Wirkung erfolgt über eine Zunahme der Zellfrequenz  $f$  nach der Energiebilanz-Gleichung  $E = E_A \cdot f$ . Alle aus dem Stand der Technik als MHG-CoA Reduktase-Hemmer bekannte Cholesterin-Senker sind nach dem Dipol-Modell zellstimulierende Substanzen wie z.B. Nys, allerdings haben sie einen schwächeren Dipol-Charakter als dieses. Sowohl Nys, Amp und andere erfindungsgemäße Polyen-Makrolide als auch die MHG-CoA Reduktase-Hemmer führen zu einer Zunahme der HMG-CoA-Reduktase (Goodman & Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1991, S. 883) über eine Stimulation der Zellen. Gleichzeitig fördern sie den Cholesterinumsatz in den Zellmembranen und verringern auf diese Weise den Anteil des zirkulierenden Cholesterins. Die cholesterinsenkende Wirkung tritt bei allen Lipidsenkern erst nach einigen Wochen bis Monaten auf - die lebenserhaltenden Effekte, wie die Senkung der Mortalität und der schwerwiegenden kardiovaskulären Ereignisse dagegen erst nach 2-3 Jahren (the Scandinavian Simvastatin Survival Trial The Lancet, Band 344, 19. Nov. 1994, 1383-89). Patienten mit Hypercholesterinämie können erfindungsgemäß oral mit etwa 0,5-4 g, vorzugsweise etwa 1 bis 1,5 g eines Polyen-Makrolids, wie Nys und Amp, pro Tag chronisch behandelt werden. Sie zeigen eine deutliche Senkung des Gesamtcholesterins 1 bis 2 Monaten nach Therapiebeginn. Eine lipidsenkende Therapie sollte daher vorzugsweise chronisch

erfolgen.

b) Morbus Alzheimer (Alz)

Die apoE4-Allel ist mit Alz signifikant assoziiert. Dieses Apolipoprotein ist am Cholesterinstoffwechsel maßgeblich beteiligt. ApoE findet man in den Plaques der dystrophischen Neuritis bei Alz. ApoE bindet fest an den löslichen und unlöslichen Formen des  $\beta$ -Amyloids in Alz-Patienten. Beim ApoE-Allel ist die Aminosäure-Position 112 (Cys) durch Arg+ besetzt. Es handelt sich um eine Mutationsvariante, welche, wie durch die Theorie vorausgesagt, eine Soliton-spezifische Aminosäure betrifft und eine Beeinträchtigung der Energieumwandlung hervorruft (The Lancet, Vol 343, April 23, 1994 und Sept 18, 1993, S. 697). Weitere Mutationen sind ebenfalls bekannt. Eine chronische Therapie mit Makroliden, wie Nys verbessert die Alzheimer-Symptomatik.

c) Prostatahyperplasie

Die Prostata ist ein wichtiges Organ für die Synthese der Sexualhormone, wobei Cholesterin als Prekursor fungiert. Eine Prostatahyperplasie im fortgeschrittenen Alter ist Ausdruck einer verminderten Organfunktion. Eine Organhyperplasie entwickelt sich stets kompensatorisch, wenn eine verminderte Zelleistung im Organ vorliegt (z.B Struma beim Jodmangel oder Hypothyreoidismus, Nebennierenrinde-Hypertrophie bei endokriner Insuffizienz, etc.). Organhyperplasien sind in der Regel reversibel. Polyen-Makrolide, wie Nys und Amp, verbessern den Energieumsatz in der Prostata und fördert den Cholesterinstoffwechsel. Damit verbessert sich auch die Produktion der Steroidhormone. Die Rückbildung der Prostatahyperplasie findet nach 3 bis 6 Monaten statt und ist reversibel - nach Absetzen der Nys-Therapie tritt die Prostatahypertrophie innerhalb von 1/2 bis 1 Jahr erneut auf. Diese Tatsache bestätigt die Notwendigkeit einer chronischen Therapie mit zellstimulierenden Substanzen bei diesen und vielen anderen Indikationen. Die erfindungsgemäße Behandlung erfolgt durch Verabreichung des Wirkstoffs in einer täglichen Dosis von etwa 0,5-4 g, vorzugsweise etwa 1 bis

2 g.

d) Cholezystolithiasis (Gallensteine)

Gallensteine sind auf eine ungenügende Gallensäure-Produktion zurückzuführen. Gallensäuren sind Cholesterinderivate mit einem, im Vergleich zu Cholesterin, stärkeren Dipolcharakter. Sie bilden Micellen mit den Nahrungslipiden im Gastrointestinaltrakt und erleichtern auf diese Weise ihre Resorption. Nys stimuliert die Gallensäureproduktion der Hepatozyten und führt zum Abbau von Gallensteinen. Alle wirksamen Cholagoga sind nach dem Dipolmodell zellstimulierende Substanzen. Die Cholesterinsäuren Chenodeoxycholsäure und Ursodeoxycholsäure z.B. weisen, aufgrund der COO<sup>-</sup>-Gruppe am aliphatischen Teil, einen stärkeren Dipol-Charakter als Cholesterin auf und werden als Mittel gegen Cholecystolithiasis erfolgreich eingesetzt. Die erfindungsgemäße Behandlung erfolgt durch gegebenenfalls chronische Verabreichung des Wirkstoffs in einer täglichen Dosis von etwa 0,5-4 g, vorzugsweise etwa 1 bis 1,5 g.

e) Akne

Akne ist über die Steroidhormonsynthese mit dem Cholesterinstoffwechsel eng verbunden. Polyen-Makrolide, wie Nys und Amp, helfen sowohl topisch als auch systemisch bei Akne. Die topische Behandlung erfolgt durch gegebenenfalls mehrmalige (2-4 Mal) Auftragung einer Salbe (etwa 20-200 mg, vorzugsweise etwa 50-100 mg Wirkstoff/g Salbe). Die orale Behandlung erfolgt durch tägliche Gabe von etwa 0,5-4 g, vorzugsweise etwa 1 g des Wirkstoffs.

7. Verschiedene Hautkrankheiten:

a) Neurodermitis

b) Hautallergien (Kontaktallergien)

30 c) Ekzem

d) Psoriasis

e) Stomatitis aphthosa

f) jede Art der Stomatitis

Bei den meisten dieser Krankheiten muß der Wirkstoff sowohl oral als auch topisch verabreicht werden (siehe experimenteller Teil).

5 VIII. Galenische Darreichungen für Polyen-Makrolide

In Abhängigkeit von der spezifischen Indikation werden Polyen-Makrolide erfindungsgemäß oral, topisch oder intranasal, z.B. als Inhalation, appliziert. Orale oder topische Verabreichung sind bevorzugt.

10 Die erfindungsgemäß verwendete tägliche orale Dosis des Wirkstoffs liegt im Bereich von etwa 1-200 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise jedoch bei etwa 10 bis 100 mg/kg Körpergewicht, insbesondere bei etwa 15 bis 30 mg/kg Körpergewicht. Die spezielle Tagesdosis ist vom jeweiligen Wirkstoff, von Krankheit  
15 und Zustand des Patienten abhängig und vom behandelnden Arzt einzustellen. Die bevorzugte orale Tagesdosis für Erwachsene liegt für Nys und Amp bei etwa 100 mg bis 5 g, insbesondere etwa 0,7 bis 2 g, wie z.B. 1,0 bis 1,5 g. Die Erhaltungsdosis von Nys und Amp kann bei etwa 200 mg bis 2 g liegen. Die Appli-  
20 kationen können 1 bis 6-mal täglich erfolgen und sollten vorzugsweise bei 1 bis 4-mal/täglich liegen. 1 mg Nystatin entspricht etwa 5 000 I.E.

Geeignete Darreicherungsformen umfassen: Tabletten, Kapseln, Lutschtabletten, Pulver für Emulsionen, Lösungen und Suspensionen. Es wird darauf geachtet, daß alle Darreichungsformen  
25 das Polyen als reine Substanz enthalten werden. Der Anteil der übrigen Bestandteile wird vorzugsweise auf ein Minimum reduziert. Die Tabletten können z.B. zusätzlich galenische Hilfsstoffe, wie Ethylzellulose, Laktose, Maisstärke, Magnesiumstearat, Talk, Saccharose, Paraffin, Gelatine, Wachs, Vanillin,  
30 etc., enthalten. Lutschtabletten können Geschmacksstoffe,

d-Mannitol, Polyvinylalkohol oder andere Alkohole, Magnesiumstearat, Talk, etc. enthalten. Kapseln werden, nach Möglichkeit, nur die reine Substanz enthalten. Alle anderen

notwendigen Zusatzstoffe werden auf ein Minimum reduziert. Für Emulsionen werden übliche Emulgiermittel verwendet. Dimethylsulfoxid (DMSO) kann beispielsweise zur Herstellung von Lösungen verwendet werden.

- 5 Die topischen Applikationsformen enthalten das Polyen-Makrolid in einer Dosierung von etwa 10-200 mg, vorzugsweise etwa 40-200, insbesondere etwa 50-100 mg/g des Mittels. Beispiele für topische Darreichungsformen sind: Creme, Salbe, Paste, Lotion, Emulsion, Lösung usw. Folgende Zusatzstoffe können verwendet werden: Weich- und Flüssigparaffin, Cetyl- oder Stearylalkohol und andere Alkohole, Stearinsäure, Sorbinsäure, Natriumhydroxid, Propyl- und Methylhydrobenzoat, Propylenglykol, Glycerylmonostearat, Duftstoffe, Lösungsmittel, wie DMSO, usw.
- 10
- 15 Für Inhalationen mit Aerosol- und Nasalsprays werden geeignete Inhalationslösungen verwendet. Die Konzentrationen des Polyens werden bei etwa 2 bis 200 µg/ml, vorzugsweise etwa 10-20 µg/ml Mittel, liegen.

- Die topisch und intranasal zu verabreichenden Mittel können beispielsweise 1 bis 8-mal täglich appliziert werden.
- 20

- Kommerzielles Nys enthält zwei Komponenten, die man als Nystatin A1 und Nystatin A2 bezeichnet. Nystatin A1 ist stabiler als A2 und das Verhältnis von A1 und A2 bestimmt die Stabilität des Materials. Obwohl dieser Aspekt für die vorliegende Erfindung nicht entscheidend ist, werden nur solche Handelspräparate bevorzugt, welche eine zufriedenstellende Stabilität aufweisen. Die richtige Wahl geeigneter Handelsprodukte liegt im Bereich fachmännischen Könnens.
- 25

#### IX. Experimenteller Teil

##### 30 Beispiel 1: Therapie von AIDS-Patienten

Zur Zeit werden 3 HIV-positive symptomfreie Patienten mit Nys oral (1,5-2g/Tag) chronisch behandelt. Weitere Patienten befinden sich in der Rekrutierung. Weitere 4 Patienten mit

AIDS-related Komplex (ARK) ohne systemische Mykosen erhalten dieselbe Therapie. Bei diesen Patienten konnte eine Besserung der ARK-Symptomatik nach 4-6 Wochen Therapie erzielt werden.

Gleiche Resultate erzielte man bei 4 Patienten (2 symptom-  
5 frei, 2 in ARK-Phase) bei entsprechender Therapie mit Amp.

#### Beispiel 2: Behandlung von HSV-Infektionen

a) 25 Patienten mit Herpes labiales wurden topisch mit Nys Salbe (50mg Nys/g Salbe) sofort nach Auftreten der Erkrankung behandelt. Applikationshäufigkeit 6-8 mal pro Tag. Eine  
10 Schmerzlinderung und eine Rückbildung der Bläschen trat innerhalb von 24-48 Stunden ein. Die Therapiedauer bis zur Heilung betrug 1 Woche.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 8 Patienten.

15 b) 7 Patienten mit chronisch-rezidivierender HSV (3 bis 5 HSV-Ereignisse pro Jahr) wurden 3 bis 6 Monate präventiv mit Nys oral (1g/Tag) behandelt. Die Inzidenzrate konnte deutlich gesenkt werden. 6 Patienten waren 6 Monate und länger rezidivfrei. Bei einem Patienten trat lediglich einmal eine HSV-Infek-  
20 tion mit mildem Verlauf auf.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 5 Patienten.

#### Beispiel 3: Behandlung von Herpes Zoster Varicella (HZV)

Drei Patienten, darunter 2 Kinder, mit HZV-Infektion und  
25 Gürtelrose am Rumpf wurden für die Dauer der Erkrankung topisch mit Nys Salbe (50-100 mg Nys/g Salbe) therapiert. Ein bei allen Patienten durchgeführter intraindividueller Vergleich ergab einen schnelleren und deutlicheren Rückgang der Effloreszenzen unter Therapie im Gegensatz zu nicht-therapierten Stellen.

30 Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei vier Patienten.

#### Beispiel 4: Behandlung von Hepatitis B Virus (HBV) Infektionen

Vier Patienten mit chronischer Hepatitis B wurden oral mit Nys (1-1,5 g/Tag) 6 Monate therapiert. Es konnte eine vollständige Rückbildung der Symptome erreicht werden. Die Leberwerte (GPT, GOT, gamma-GT) normalisierten sich gegen Therapieende.

- 5        Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp.

Beispiel 5: Behandlung rezidivierender Stomatitis aphthosa (RAS)

- 10       18 Patienten mit RAS wurden mit einer schleimhaut-haftende Nys-Salbe (20-50 mg/g Salbe), hergestellt gemäß Deutscher Patentanmeldung P 44 34 929.7, therapiert. Die Applikation erfolgte in 2-stündigen Intervallen. Der Schmerz konnte bereits nach der ersten Gabe deutlich gelindert werden. In Abhängigkeit von der Größe der Läsionen bildete sich die RAS innerhalb von 24 bis 48 Stunden zurück, wohingegen eine Rückbildung ohne Therapie 5 bis 7 Tage benötigte. Keiner der Patienten zeigte RAS nach 4-tägiger Therapie.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 12 Patienten.

- 20       Beispiel 6: Behandlung von Rheumatoider Arthritis (RA) und Osteoarthritis (OA)

- 25       9 Patienten mit chronischer RA und 3 Patienten mit OA werden mit Nys oral (1g/Tag) behandelt. Die RA-Symptomatik bildete sich nach 6 bis 8 Wochen zurück und trat während der Erhaltungstherapie (gleiche Dosis) nicht wieder auf. Bei 2 Patientinnen wurde die Therapie vorübergehend abgesetzt und die Symptome traten erneut auf. Nach Wiederaufnahme der Nys-Therapie bildeten sich die RA-Symptome erneut zurück (Challenge-Dechallenge).

- 30       Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 5 Patienten.

Beispiel 7: Behandlung von Multipler Sklerose (MS)

Drei Patienten mit MS wurden chronisch mit Nys oral (1g/Tag) behandelt. Bereits zwei Monate nach Therapiebeginn kam es zu einer deutlichen Besserung der Symptome.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 2 Patienten.

#### Beispiel 8: Therapie von Allergien

a) Sieben Patienten mit Lebensmittelallergien (3 mit gluten-sensitiver Enteropathie, 2 mit Milchallergie und 2 mit Früchteallergie) wurden mit einer Tagesdosis von 1g Nys 6 Monate oral behandelt. Die Unverträglichkeiten bildeten sich nach 2-3 Monaten weitgehend zurück und die betreffenden Lebensmittel konnten wieder eingenommen werden.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 5 Patienten.

b) 15 Patienten mit Pollenallergie und 8 Patienten mit Stauballergie wurden mit einer Tagesdosis von 1g Nys 6 Monate oral behandelt. Alle Patienten zeigten vor Behandlungsbeginn eine therapieresistente Allergie seit mindestens 5 Jahren bzw. seit der Geburt. Bei allen Patienten konnte eine fast vollständige Rückbildung der Symptome (allergische Rhinitis, Asthmaanfälle, verstopfte Nase, etc.) nach 6 bis 8 Wochen erreicht werden. Nach einem experimentellen Absetzen der Therapie (Dechallenge) bildeten sich die Symptome bei etwa der Hälfte der Patienten langsam zurück. Nach erneuter Gabe der Therapie (Challenge) konnte erneut eine Heilung/Besserung der Symptome erzielt werden.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 7 Patienten.

#### Beispiel 9: Behandlung von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa

Beide Krankheiten weisen CD44-Mutanten in den Mukosakrypten auf. CD44 ist an der MHC-eingeschränkten -T -Zell-Rezeptor Interaktion beteiligt. Ein Patient mit Morbus Crohn und 2 Patienten mit Colitis ulcerosa wurden chronisch mit 1-1,5 g Nys/-

Tag oral behandelt. Die Progredienz der Erkrankung konnte gestoppt werden und die Symptome bildeten sich zurück. Endoskopische Untersuchungen bestätigten die Ergebnisse.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp (2 Patienten mit Morbus Crohn, 1 Patient mit Colitis ulcerosa).

#### Beispiel 10: Behandlung von Psoriasis

4 Patienten mit therapieresistenter Psoriasis am ganzen Körper und mit unverändertem Befund seit mehreren Jahren wurden oral mit 1-1,5 g Nys/Tag chronisch therapiert. Zusätzlich wurde Nys topisch appliziert. Eine Besserung konnte nach 2-3 Monaten bei allen Patienten erzielt werden. Es kam zur Rückbildung der Randentzündung und zur Verkleinerung der Effloreszenzen. Innerhalb der Psoriasis-effloreszenzen bildete sich die Hyperkeratose zurück und es entstanden Inseln mit normaler Epithelisierung. Schuppung und Juckreiz bildeten sich nach 3-4 wöchiger Therapie zurück.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 2 Patienten.

#### Beispiel 11: Behandlung von Leberzirrhose

Drei Patienten mit alkoholbedingter Leberzirrhose wurden chronisch mit 1-1,5 g Nys/Tag oral behandelt. Eine Besserung der Leberwerte und des allgemeinen Wohlbefindens war zu beobachten.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 4 Patienten.

#### Beispiel 12: Behandlung von Lichen ruber

2 Patienten mit Lichen ruber wurden mit 2 g Nys/Tag 3 Monate oral therapiert. Die Effloreszenzen bildeten sich vollständig zurück.

#### Beispiel 13: Behandlung von Neurodermitis

8 Kinder mit atopischer Neurodermitis wurden topisch mit Nys-Salbe (20-50 mg/g Salbe) behandelt. Die Auftragung erfolgte 3-6-mal täglich. Die behandelten Stellen mit Neurodermitis bildeten sich nach wenigen Tagen (3-7 Tagen) vollständig zurück. Im Vergleich dazu persistierten die unbehandelten Effloreszenzen.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 5 Kindern.

Beispiel 14: Behandlung der Kältehämagglutinin-Krankheit (KAK)

10 Eine Patientin mit chronischer KAK und sehr hohem Titer an monoklonalen IgM-Antikörpern wurde mit 1-1,5 g Nys/Tag oral 6 Monate behandelt. Die Akrozyanose, welche bereits bei 16-18°C Lufttemperatur regelmäßig auftrat, bildete sich in hohem Maße zurück. Die Intensität nahm ab und die Expositionszeit bei Temperaturen unter 16°C verlängerte sich. Bei wiederholten Provokationstests mit kaltem Wasser konnte, im Gegensatz zum Zustand vor der Therapie, keine Akrozyanose ausgelöst werden. Die Antikörper-Titer wurden ebenfalls gesenkt.

20 Beispiel 15: Behandlung von Polyneuroradikulitis (Guillain-Barre Syndrom)

Ein Patient mit Polyneuroradikulitis und neurologischen Ausfällen wurde mit 1g Nys/Tag chronisch oral behandelt. Es kam zu einer deutlichen Rückbildung der Paresen und der Schmerzsymptomatik.

25 Beispiel 16: Vorbeugende Behandlung gegen Sepsis

405 Intensiv-Patienten mit schweren multiple Traumata wurden mit 3 g/Tag Amphotericin B oder Nys für die Dauer der Intensivbehandlung (2 bis 6 Wochen) oral behandelt. Im Vergleich zu der Standardgruppe ohne Therapie konnte die Mortalität und die Morbidität nosokomialer Infektionen bei diesen Patienten gesenkt werden. Da bei den Patienten keine Mykose festzustellen war, sind diese Effekte auf die Immunstimulation durch die Polyene zurückzuführen.

Beispiel 17: Behandlung von Immunschwäche nach chronischer Antibiotikagabe

9 Patienten, die wegen diverser Infektionen mit Antibiotika chronisch behandelt wurden und eine herabgesetzte Immunabwehr aufwiesen, erhielten oral 1-1,5g Nys/Tag über einen Zeitraum von 3 -6 Monaten. Keiner der Patienten wies eine Mykose auf. In diesem Zeitraum wurde die Antibiotikatherapie abgesetzt. Während und nach der Nys-Therapie besserte sich der Zustand der Patienten signifikant, so daß eine weitere Antibiotikatherapie nicht mehr notwendig war. Die Infektionsrate bildete sich zurück und die immunologischen Parameter normalisierten sich.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 5 Patienten.

15 Beispiel 18: Behandlung von Chronischem Erschöpfungssyndrom (chronic fatigue syndrom, CFS)

12 Patienten mit CFS nach der CDC-Klassifikation wurden oral mit 1-1,5 g Nys/Tag 3 bis 6 Monate therapiert. Bei 8 Patienten kam es zu einer vollständigen Rückbildung der CFS-Symptome und bei den anderen 4 Patienten zu einer deutlichen Besserung der Symptomatik und des Wohlbefindens.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 7 Patienten.

Beispiel 19: Behandlung von Postmenopausalem Syndrom (PMS)

25 5 Patientinnen mit PMS und ohne Hormontherapie wurden mit 1g Nys/Tag über einen Zeitraum von 3-6 Monaten therapiert. Die PMS-Symptomatik bildete sich vollständig zurück.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 3 Patientinnen.

30 Beispiel 20: Behandlung von Krebs

a) Drei Patienten mit Pankreaskarzinom und Fernmetastasen (Leber und Lymphknoten) und Kachexie wurden oral mit 1,5 -2 g

Nys/Tag behandelt. Bei einem Patienten kam es zur Rückbildung der Lebermetastasen (nachgewiesen durch Röntgenaufnahmen). Alle drei Patienten nahmen an Gewicht zu und ihr Wohlbefinden verbesserte sich spürbar bereits nach 2 wöchiger Therapie. Bei  
5 einem Patienten wurde die Nys-Therapie durch Chemotherapie und Bestrahlung ersetzt. Der Patient verstarb kurz darauf. Die anderen 2 Patienten erhalten weiterhin Nys-Therapie und haben die statistische Lebenserwartung bereits überschritten.

b) Vier Patientinnen mit Mammakarzinom und Zustand nach Ablatio wurden oral mit 1-1,5 g Nys/Tag chronisch behandelt. Ein  
10 Auftreten von Metastasen war nicht zu beobachten.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp (1 Patient mit Pankreaskarzinom, 4 Patientinnen mit Mammakarzinom).

c) Zwei Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom im Endstadium und Kachexie wurden mit 1,5 -2 g Nys behandelt. Die Kachexie konnte aufgehalten werden.  
15

d) Ein Patient mit Leberkarzinom und Kachexie wurde oral mit 1,5 -2 g Amp/Tag behandelt. Es kam zur Rückbildung der Lebermetastasen (nachgewiesen durch Röntgenaufnahmen). Der Patient  
20 nahm an Gewicht zu und sein Wohlbefinden verbesserte sich spürbar bereits nach 2 wöchiger Therapie.

e) Drei Patienten mit Dickdarmkarzinom im Endstadium und Kachexie wurden oral mit 1,5 - 2 g Amp/Tag behandelt. Die gastrointestinalen Beschwerden konnten deutlich gelindert und die  
25 Kachexie konnte aufgehalten werden.

#### Beispiel 21: Verwendung von Nys zur Wundheilung

32 Patienten mit Weichteilwunden wurden topisch mit Nys-Salbe behandelt (50-100 mg Nys pro g Salbe). Die Salbe wurde  
30 mehrmals pro Tag aufgetragen. Im intraindividuellen Vergleich zu nicht-behandelten Wunden konnte eine signifikant schnellere Heilung erreicht werden. Die Heilungszeit konnte durch Nys um 35 -50% gesenkt werden.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 14 Patienten.

Beispiel 22: Behandlung von Verbrennungen

a) 19 Patienten mit Hautverbrennungen 2. und 3. Grades wurden mit Nys-Salbe sofort nach der Verbrennung behandelt. Die Salbe wurde 6 bis 8-mal täglich verabreicht. Nys verhindert das Auftreten von Blasen und lindert den Schmerz nach wenigen Minuten. Nys verhindert die Bildung von Cicatrix und beschleunigt den Heilungsprozess. Die Nys-Salbe muß mehrmals am Tag appliziert werden.

b) Mehrere Personen mit Sonnenbrand wurden ebenfalls mit Nys-Salbe topisch behandelt. Der Sonnenbrand bildete sich innerhalb von 24-48 St. vollständig zurück.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp (14 Patienten mit Wunden, 11 mit Verbrennungen, mehrere mit Sonnenbrand).

Beispiel 23: Behandlung von Ulcus cruris und Dekubitus

8 Patienten mit chronischem Ulcus cruris und 9 Patienten mit Dekubitus wurden mit Nys topisch behandelt. Die topische Applikation erfolgte 3 bis 6-mal pro Tag. Die offenen Wunden wurden nach ca. 2-4 Wochen, je nach Ausmaß, fast vollständig epithelisiert. Nach Abbruch der Therapie kam es zu Rezidiven. Die Therapie wurde chronisch fortgesetzt.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp (3 Patienten mit Ulcus cruris, 5 mit Decubitus).

Beispiel 24: Behandlung von Hypercholesterinämie.

Sowohl in der Sepsisstudie (siehe Beispiel 16) als auch in den einzelnen expolaritiven Studien wurde eine deutliche Senkung des Gesamtcholesterins und der LDL-Fraktion bei einer Reihe von hypercholesterinämischen Patienten beobachtet, wenn sie mit 1-2 g Nys/Tag oral behandelt wurden. HDL blieb unverändert. Die Senkung erfolgte nach 10 -14 Tagen, bei manchen Pa-

tienten erst nach 3-4 Wochen. Je höher der Anfangswert von Plasmacholesterin war, umso ausgeprägter war auch der lipid-senkende Effekt von Nys. Bei Patienten mit erniedrigten Cholesterinwerten (z.B. nach schweren Traumata) wurde eine Zunahme des Cholesterins beobachtet. Nys normalisiert den Cholesterinumsatz im Körper.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp.

#### Beispiel 25: Behandlung von Prostatahyperplasie

6 Patienten mit Prostatahyperplasie wurden mindestens 6 Monate lang mit 1g Nys/Tag oral behandelt. Bereits nach 3 Monaten konnte eine fortschreitende Rückbildung der Hyperplasie beobachtet werden. Es kam zu einer Verbesserung des Harnflusses.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei 4 Patienten.

#### Beispiel 26: Behandlung von Gallensteinen

Bei 4 Patienten mit sonographisch nachgewiesener Cholezystolithiasis, die 3-6 Monate oral mit 1-1,5 g Nys/Tag therapiert wurden, konnten am Ende der Therapie keine Gallensteine mehr nachgewiesen werden (durch Sonographie und Röntgen-Kontrastmittelaufnahme).

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp bei einem Patienten.

#### Beispiel 27: Behandlung von Akne

Mehrere Patienten mit Akne, einschließlich Akne conglobata, wurden mit Nys-Salbe topisch (20-100 mg Nys/g Salbe) und Nys oral (1 g/Tag) behandelt. Es konnte eine deutliche Rückbildung der Akne erzielt werden.

Gleiche Resultate erzielte man bei entsprechender Therapie mit Amp.

Die in vorliegender Beschreibung angegebenen Tagesdosen

können je nach Einzelfall als Einzeldosis oder aufgeteilt auf mehrere Teildosen, wie z. B. 2, 3 oder 4 Teildosen, beispielsweise vor oder nach den Mahlzeiten verabreicht werden.

Der hierin verwendete Begriff chronische Verabreichung  
5 umfaßt sowohl lebenslange Verabreichungen des Wirkstoffs als auch Verabreichungen bis zum gegebenenfalls dauerhaften Abklingen oder Rückgang von Krankheitssymptomen. Bei einer erfindungsgemäßen chronischen Therapie können sich die Krankheitssymptome je nach Schwere der Erkrankung beispielsweise  
10 innerhalb von 3 bis 6 Monaten, zuweilen früher, jedoch in manchen Fällen auch erst später, wie z.B. innerhalb von 12 Monaten zurückbilden. Damit kann weiterhin eine intermittierend chronische Therapie umfaßt sein, wie z.B. eine 3 bis 6-monatige Therapie, gefolgt von einer 6 bis 12-monatigen Therapiepause,  
15 oder Wiederaufnahme der Therapie bei Wiederauftreten der Krankheit.

Eine erfindungsgemäß durchgeführte Therapie beginnt gewöhnlich nach Vorliegen eines makroskopischen oder histologischen Befunds. In besonderen Fällen, wie z.B. bei der Behandlung von AIDS oder Krebs, ist eine Frühtherapie bevorzugt. Eine  
20 Frühtherapie sollte unmittelbar nach Diagnosestellung (z.B. durch einen immunologischen Befund) jedoch von Auftreten makroskopischer oder histologischer Befunde beginnen. Bei bekannter, z.B. altersbedingter oder erblicher Prädisposition, ist  
25 auch eine präventive, chronische Gabe von Polyen-Makroliden denkbar.

Der Durchschnittsfachmann kann ausgehend von der allgemeinen Lehre der Beschreibung und auf der Basis der konkreten Lehre der Beispiele geeignete weitere Polyen-Makrolide zur Therapie auf den angegebenen Indikationsgebieten auswählen, ohne  
30 dazu erfinderisch tätig werden zu müssen.

T a b e l l e 1  
Tetraene

	Verbindung	Mikroorganismus	Summenformel
5	Amphotericin A	<i>S. nodosus</i>	$C_{46}H_{73}NO_{19}$
	Arenomycin B	<i>A. tumemacerans</i> var. <i>griseoarenicolor</i>	$C_{36}H_{55}NO_{13}$
10	Aureofusein	<i>S. aureofuscus</i>	$C_{28}H_{43}NO_{12}$
	Lucensomycin (Etruscomycin)	<i>S. lucensis</i>	$C_{36}H_{53}NO_{13}$
15	Nystatin A <sub>1</sub> (Fungicidin)	<i>S. noursei</i>	$C_{47}H_{75}NO_{17}$
	Nystatin A <sub>3</sub>	<i>S. noursei</i>	$C_{35}H_{85}NO_{20}$
20	Pimaricin	<i>S. natalensis</i>	$C_{33}H_{47}NO_{13}$
	Plumbomycin A	<i>A. plumbeus</i>	$C_{47-48}H_{85-87}NO_{20}$
	Plumbomycin B	<i>A. plumbeus</i>	$C_{46-47}H_{78-82}NO_{20-21}$
25	Polifungin B	<i>S. noursei</i>	$C_{47-48}H_{75-79}NO_{18}$
	Protocidin	<i>Streptomyces</i> sp.	$C_{29}H_{45}NO_{13}$
30	Rimocidin	<i>S. rimosus</i>	$C_{39}H_{61}NO_{14}$
	Tetrafungin	<i>S. albulus</i> subsp. <i>tetrafungini</i>	$C_{47}H_{82}NO_{23}$
35	Tetramycin A (Tetramycin)	<i>S. noursei</i> var. <i>jensen-</i> <i>sis</i>	$C_{35}H_{53}NO_{13}$
	Tetramycin B	<i>S. noursei</i> var. <i>jensen-</i> <i>sis</i>	$C_{35}H_{53}NO_{14}$
	Tetrin A	<i>Streptomyces</i> sp.	$C_{34}H_{51}NO_{13}$
40	Tetrin B	<i>Streptomyces</i> sp.	$C_{34}H_{51}NO_{14}$
	Toyamycin	<i>S. toyamaensis</i>	$C_{41}H_{65}NO_{18}$
45	A-435	<i>S. rimosus</i>	$C_{31-34}H_{44-51}NO_{13-14}$
	A-5283		$C_{31-34}H_{44-51}NO_{13-14}$
50	PA-166	<i>Streptomyces</i> sp.	$C_{35}H_{53}NO_{14}$

T a b e l l e 2**Pentaene**

	Verbindung	Mikroorganismus	Summenformel
5	Aurenin	Actinomyces aureorectus	$C_{33}H_{54}O_{11}$
	Capacidin	Streptomyces sp.	$C_{54}H_{85}N_2O_{18}$
10	Chainin	Chainia minutisclerotica	$C_{33}H_{54}O_{10}$
	Elizabethin	S. elizabethii	$C_{35}H_{58}O_{12}$
	Filipin I	S. filipinensis	$C_{35}H_{58}O_9$
15	Filipin II	S. filipinensis	$C_{35}H_{58}O_{10}$
	Filipin III (Hauptkomponente)	S. filipinensis	$C_{35}H_{58}O_{11}$
20	Filipin IV	S. filipinensis	$C_{35}H_{58}O_{11}$
	Fungichromin	S. cellulosa S. roseoluteus S. fradiae S. griseus	$C_{35}H_{58}O_{12}$
	Homochainin	C. minutisclerotica	$C_{34}H_{56}O_{10}$
25	Kabacidin	S. gougerotii	$C_{35}H_{60}O_{13}$
	Lienomycin	Actinomyces dias- tatochromogenes var. lienomycini	$C_{67}H_{107}NO_{18}$
	Moldcidin A	S. griseofuscus	$C_{42}H_{81}NO_{19}$
30	Norchainin	Chainia minutisclerotica	$C_{32}H_{52}O_{10}$
	Onomycin-I	Streptomyces sp.	$C_{43}H_{76}NO_{17}$
35	Pentacidin	A. hygroscopicus	$C_{31}H_{50}O_{10}$
	Pentafungin	S. antimycoticus	$C_{41}H_{74}NO_{16}$
	PA-153	Streptomyces sp.	$C_{37}H_{61}NO_{14}$
40	S 728	Streptomyces sp.	$C_{56}H_{93}NO_{20}$

T a b e l l e 3

## Hexaene

Verbindung	Mikroorganismus	Summenformel
Candihexin A	Streptomyces viridoflavus	$C_{43}H_{76}NO_{19}$
Candihexin B	S. viridoflavus	$C_{48}H_{90}NO_{21}$
Cryptocidin	Streptomyces sp.	$C_{52}H_{84}NO_{17}$
Grecomycin	S. chromogenes var. graecus	$C_{38}H_{41}O_{10}$

T a b e l l e 4**Heptaene**

5

10

15

20

25

30

35

Verbindung	Mikroorganismus	Summenformel
Acmycin	Streptomyces sp.	C <sub>38</sub> H <sub>68</sub> NO <sub>30</sub>
Amphotericin B	S. nodosus	C <sub>47</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>17</sub>
Aureofungin A	S. cinnamoneus var. terricola	C <sub>59</sub> H <sub>86</sub> N <sub>2</sub> O <sub>19</sub>
Aureofungin B	S. cinnamoneus var. terricola	C <sub>57</sub> H <sub>85</sub> NO <sub>19</sub>
Candidin	S. viridoflavus	C <sub>47</sub> H <sub>71</sub> NO <sub>17</sub>
Flavumycin A	Actinomyces flavus var. geptinicus	C <sub>60</sub> H <sub>91</sub> N <sub>2</sub> O <sub>17-19</sub>
Hamycin	S. pimprina	C <sub>58</sub> H <sub>86</sub> N <sub>2</sub> O <sub>19</sub>
Levorin A <sub>2</sub>	A. levoris	C <sub>59</sub> H <sub>89</sub> N <sub>2</sub> O <sub>18</sub>
Levorin B	A. levoris	C <sub>62</sub> H <sub>98</sub> N <sub>2</sub> O <sub>25</sub>
Lucknomycin	S. diastatochromo- genes	C <sub>61</sub> H <sub>98</sub> N <sub>2</sub> O <sub>24</sub>
Partricin A	S. aureofaciens	C <sub>59</sub> H <sub>86</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>
Partricin B	S. aureofaciens	C <sub>58</sub> H <sub>84</sub> N <sub>2</sub> O <sub>19</sub>
Perimycin A	S. coelicolor var. aminophilus	C <sub>59</sub> H <sub>88</sub> N <sub>2</sub> O <sub>17</sub>
Trichomycin A	S. hachijoensis	C <sub>61</sub> H <sub>86</sub> N <sub>2</sub> O <sub>21</sub>
AF-1231	Streptomyces sp.	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> N <sub>2</sub> O <sub>17</sub>
DJ-400 B <sub>1</sub>	S. surinam	C <sub>65</sub> H <sub>96</sub> N <sub>2</sub> O <sub>21</sub>
DJ-400 B <sub>2</sub>	S. surinam	C <sub>58</sub> H <sub>86</sub> N <sub>2</sub> O <sub>20</sub>
67-121A	Actinoplanes caeru- leus	C <sub>59</sub> H <sub>88</sub> N <sub>2</sub> O <sub>19</sub>
67-121 C	Actinoplanes caeru- leus	C <sub>65</sub> H <sub>98</sub> N <sub>2</sub> O <sub>28</sub>

Patentansprüche

1. Verwendung wenigstens eines Polyen-Makrolids oder  
5 eines funktionalen Derivats davon zur Herstellung eines oral,  
topisch oder intranasal verabreichbaren Mittels zur Behandlung  
einer Erkrankung, ausgenommen einer Pilzerkrankung, wobei Ent-  
stehung und/oder Verlauf der Erkrankung assoziiert ist mit ei-  
ner Störung des Energieumsatzes von Körperzellen eines Säugers.
- 10 2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Polyen-Makrolid  
4 bis 7 konjugierte, trans-ständige Kohlenstoff-Kohlenstoff-  
Doppelbindungen umfaßt.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2 zur Herstellung eines  
Mittels für die Behandlung einer oder mehreren Krankheiten der  
15 folgenden Gruppen:
- a) Wundleiden und Krankheiten mit gestörter Wundheilung,
  - b) Krankheiten, die durch eine Immuninsuffizienz bedingt sind  
oder mit einer vorübergehenden oder chronischen Immunin-  
suffizienz einhergehen,
  - 20 c) Krebserkrankungen,
  - d) Viruserkrankungen,
  - e) Krankheiten, ausgelöst durch einen gestörten Cholesterin-  
stoffwechsel, und
  - f) dermatologische Krankheiten, ausgelöst durch einen gestör-  
25 ten Zellstoffwechsel bzw. Zellauf- oder abbau.
4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die durch eine Imm-  
uninsuffizienz bedingten Krankheiten verbunden sind mit einer  
angeborenen oder erworbenen funktionalen Störung von MHC Klasse  
I und/oder II Proteinen und/oder von anderen an der Immunreak-  
30 tion beteiligten integralen und intrazellulären Proteinen.
5. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die mit einer vor-  
übergehenden oder chronischen Immuninsuffizienz einhergehenden  
Erkrankungen durch externe oder innere Ursachen ausgelöst wur-  
den.
- 35 6. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Viruserkrankung  
durch Infektion mit einem Virus hervorgerufen wurde, der ausge-

wählt ist unter Picornaviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Coronaviridae, Rhabdoviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Reoviridae, Retroviridae, Hepadnoviridae, Parvoviridae, Papovaviridae, Adenoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Epstein-Barr Virus und Cytomegalovirus.

7. Verwendung nach Anspruch 3, wobei das Virus ausgewählt ist unter HIV-1, HIV-2, HTLV-I, HTLV-II, Hepatitis-A-Virus, Hepatitis-B-Virus, Herpes-Simplex Virus, Varicella-Zoster Virus, Vesicular-Stomatitis-Virus, Influenza Virus, Reuscher-Leukemia Virus, Sindbis-Virus, Vaccinia Virus und einem rezidivierende Stomatitis aphthosa hervorrufenen Virus.

8. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Erkrankung aufgrund ihrer anatomischen Zuordnung ausgewählt ist unter einer Knochenerkrankung, gastrointestinalen Erkrankung, hämatologischen Erkrankung, Hauterkrankung, endokrinen Erkrankung, neurologischen Erkrankung, Gefäßerkrankungen, Nierenerkrankung und immunologischen Erkrankung.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Krankheit ausgewählt ist unter

- jeder Form von angeborenen oder erworbenen Allergien,
- Rheumatoider Arthritis, Osteoarthritis oder anderen Krankheiten des rheumatischen Formenkreises,
- Multipler Sklerose,
- Alzheimer Krankheit,
- chronischem Erschöpfungssyndrom,
- Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und anderen erworbenen oder angeborenen Enteropathien und
- Neurodermitis.

10. Verwendung nach Anspruch 5, wobei die Krankheit ausgewählt ist unter

- Sepsis,
- jeder Art von bakteriellen Infektion,
- chronischen Infektionen oder anderen Krankheiten unter Antibiotikabehandlung,
- Krankheiten unter chronischer Therapie mit zell-hemmenden Medikamenten, welche das Immunsystem beeinträchtigen,

- genetischen Erkrankungen,
- unter dem Einfluß von Umweltgiften erworbenen Krankheiten, wie Berufskrankheiten,
- Postmenopausalem Syndrom und
- 5 - Leberzirrhose.

11. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Krebserkrankung einen soliden Tumor, Leukämie oder eine andere Neoplasie umfaßt.

10 12. Verwendung nach Anspruch 3 zur Behandlung jeglicher Art von Wunden, Verbrennungen, einschließlich Sonnenbrand, Ulcus cruris, Decubitus, Fisteln und anderen chronisch-trophische Defekte.

13. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Cholesterinstoffwechsel-bedingte Erkrankung ausgewählt ist unter Hypercholesterinämie, Atherosklerose/Arteriosklerose, Cholezystolithiasis, Prostatahyperplasie und Morbus Alzheimer.

14. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Hauterkrankung ausgewählt ist unter Akne, Neurodermitis, Lichen ruber, Hautallergien, wie Kontaktallergien, Urtikaria und dergleichen, Ekzemen, Psoriasis, Stomatitis aphthosa und jeder Art der Stomatitis.

15. Verfahren zur Modulation der Energieumwandlung in Körperzellen eines Säugers, umfassend die orale, topische und/oder intranasale Verabreichung wenigstens eines Polyen-Makrolids oder eines funktionalen Derivates davon in einer die Frequenz zellulärer Potentialschwankungen beeinflussenden Menge an den Säuger.

16. Verfahren zur Behandlung einer Krankheit gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14, umfassend die topische, orale und/oder intranasale Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge wenigstens eines Polyen-Makrolids oder eines funktionalen Äquivalents davon an einen erkrankten Säuger.

17. Verfahren zur Behandlung von HIV-Infektionen, wobei man einem HIV-infizierten Patienten nach Diagnostizierung der Serokonversion und vorzugsweise bereits vor der Manifestation von AIDS-Symptomen das Polyen-Makrolid chronisch oral verab-

reicht.

18. Verfahren nach Anspruch 17, wobei man das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 5g, vorzugsweise etwa 1 bis 3g verabreicht.

5 19. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Herpes Simplex Virus Infektionen, wobei man auf den Entzündungsherd das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 40 bis 200mg pro g des verabreichten Mittels mehrmals täglich bis zur Rückbildung der  
10 Symptome aufträgt; und/oder das Polyen-Makrolid in einer Tagesdosis von etwa 0,5 bis 5g chronisch oral verabreicht.

20. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Varicella Zoster Infektionen, wobei man auf den Entzündungsherd das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit  
15 einem Wirkstoffgehalt von etwa 40-200 mg pro g des verabreichten Mittels mehrmals täglich bis zur Rückbildung der Effloreszenzen aufträgt.

21. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Hepatitis B Virus Infektionen, wobei man das Polyen-Makrolid in einer  
20 Tagesdosis von etwa 0,5 bis 3 g über einen Zeitraum von etwa 3 bis 6 Monaten oder länger oral bis zur Rückbildung der Symptomatik verabreicht.

22. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von rezidivierender Stomatitis aphthosa, wobei man das Polyen-Makrolid in  
25 einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 20 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels gegebenenfalls mehrmals täglich auf die Läsion bis zu deren Rückbildung aufträgt.

23. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von rheumatoider Arthritis, Osteoarthritis oder anderen Erkrankungen des  
30 rheumatischen Formenkreises, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g bis zur Rückbildung der Symptome oral verabreicht.

24. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Multipler Sklerose, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in  
35 einer täglichen oralen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

25. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Lebensmittelallergien, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen oralen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

5        26. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Allergien, wie Pollen-, Staub-, Milben-, Lebensmittelallergien und dergleichen, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer oralen Tagesdosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

10       27. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Leberzirrhose, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen oralen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

15       28. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Lichen ruber, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 1 bis 4 g bis zur vollständigen Rückbildung der Effloreszenzen oral verabreicht.

20       29. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Neurodermitis, wobei man auf die betroffenen Hautabschnitte das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 20 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels mehrmals täglich bis zur vollständigen Rückbildung der Symptome aufträgt.

25       30. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung der Kälteagglutinin-Krankheit, wobei man dem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen oralen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

30       31. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Polyneuroradikulitis, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch bis zur Rückbildung der Paresen und der Schmerzsymptomatik oral verabreicht.

35       32. Verfahren zur vorbeugenden Behandlung gegen Sepsis, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer Tagesdosis von etwa 1 bis 5 g oral verabreicht.

33. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung Antibiotika-bedingter immunologischer Störungen, wobei man einem Patienten

ten das Polyen-Makrolid in einer täglichen oralen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

34. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von chronischem Erschöpfungssyndrom, wobei man einem Patienten das Poly-  
5 en-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g bis zur vollständigen Rückbildung der Symptome oral verabreicht.

35. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von postmenopausalem Syndrom, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g bis zur voll-  
10 ständigen Rückbildung der Symptome oral verabreicht.

36. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Krebs, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen oralen Dosis von 0,5 bis 5 g chronisch verabreicht.

37. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Weichteilwunden, wobei man auf die betroffene Stelle das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 50 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels gegebenenfalls mehrmals täglich bis zur Abheilung auf-  
15 trägt.

38. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Verbrennungen, einschließlich Sonnenbrand, wobei man auf die Verbrennung das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 50 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels gegebenenfalls mehrmals täglich bis  
20 zur Linderung der Symptome aufträgt.

39. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Ulcus cruris und Dekubitus, wobei man auf die Läsion das Polyen-Makrolid in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel in einer Konzentration von etwa 50 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels bis zur Heilung aufträgt und die Behandlung gegebenenfalls  
30 chronisch fortsetzt.

40. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Hypercholesterinämie, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch oral  
35 verabreicht.

41. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Prostatahyperplasie, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in

einer täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g chronisch verabreicht.

42. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Gallensteinen, wobei man einem Patienten das Polyen-Makrolid in einer  
5 täglichen Dosis von etwa 0,5 bis 4 g mindestens bis zur Rückbildung der Gallensteine, vorzugsweise chronisch, verabreicht.

43. Verfahren nach Anspruch 16 zur Behandlung von Akne, wobei man das Polyen-Makrolid auf die betroffenen Hautabschnitte in einem geeigneten pharmazeutischen Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 20 bis 200 mg/g des verabreichten Mittels  
10 mehrmals täglich aufträgt und/oder das Polyen-Makrolid in einer täglichen Dosis von 0,5 bis 4 g oral, bis zur Rückbildung der Akne, gegebenenfalls chronisch, verabreicht.

44. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 43, worin  
15 das Polyen-Makrolid in einer oralen täglichen Dosis von etwa 1 bis 2 g verabreicht wird, oder topisch in einem Mittel mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 50-100 mg/g des Mittels appliziert wird.

45. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 44, worin  
20 das Polyen-Makrolid Nystatin ist.

46. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 44, worin das Polyen-Makrolid Amphotericin B ist.

47. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, worin das Polyen-Makrolid Nystatin ist.

25 48. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, worin das Polyen-Makrolid Amphotericin B ist.

49. Pharmazeutisches Mittel, enthaltend zur topischen Verabreichung ein Polyen-Makrolid gemäß obiger Definition in einer Konzentration von etwa 40 bis 200 mg/g des Mittels, in  
30 Kombination mit üblichen pharmazeutisch akzeptablen Hilfsmitteln.

50. Pharmazeutisches Mittel, enthaltend zur oralen Verabreichung ein Polyen-Makrolid gemäß obiger Definition in einer Dosis etwa 200 bis 500 mg, gegebenenfalls in Kombination mit  
35 üblichen pharmazeutisch akzeptablen Hilfsmitteln.